

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT  
SPONS STYLOTELLA sp. ASAL KEPULAUAN SELAYAR DAN UJI  
AKTIVITAS TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7**



**Skripsi**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana  
Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

**SAHYUNI HAMZAH**  
**NIM: 60500114022**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN ALAUDDIN MAKASSAR  
2018**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

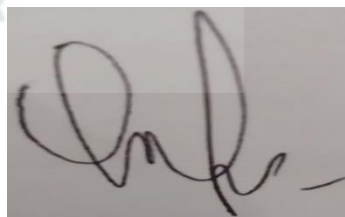
Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sahyuni Hamzah  
NIM : 60500114022  
Tempat/Tgl. Lahir : Katlarat/ 21 Oktober 1995  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Alamat : Jl. Rajawali 1 Ir. 13 B  
Judul : Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat  
Spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar dan Uji  
Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara MCF7.

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Oktober 2018

Penyusun



Sahyuni Hamzah

NIM: 60500114022

## PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul **"Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Spons *Stylotella* sp. Asal Kepulauan Selayar dan Uji Aktivitas Terhadap Sel Kanker Payudara MCF7"** yang disusun oleh **Sahyuni Hamzah, NIM: 60500114022**, mahasiswa Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada hari Rabu 21 November 2018 dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dan Teknologi, Jurusan Kimia.

Makassar, 21 November 2018 M  
13 Rabi'ul-Awwal 1440 H

### DEWAN PENGUJI

Ketua	: Dr. Wasilah, S.T., M.T.	(.....)
Sekretaris	: Dr. Rismawaty Sikanna, S.Si., M.Si	(.....)
Penguji I	: Aisyah, S.Si., M.Si	(.....)
Penguji II	: Dr. Muhsin Mahfudz, M.Th.I.	(.....)
Pembimbing I	: Asriani Ilyas, S.Si., M.Si	(.....)
Pembimbing II	: Firnanelty, S.Si., M.Si	(.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar,

Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag  
NIP. 1969/205 199303 1 001

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah tiada kata yang paling indah selain mengucap puji syukur kehadirat Allah swt. Karena berkat nikmat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dalam waktu yang ditentukan. Shalawat dan salam kita haturkan kepada Nabi Muhammad saw., pembawa kebenaran bagi umat manusia.

Skripsi dengan judul **“Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar dan Uji Aktivitas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7”** ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat melakukan penelitian dalam penyelesaian skripsi di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Musafir Pabbabari, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
3. Ibu Sjamsiah, S.Si.,M.Si.,Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

4. Ibu Dr. Rismawaty Sikanna, S. Si., M. Si. selaku Sekertaris Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Asriani Ilyas, S.Si.,M.Si., selaku Pembimbing I dan Ibu Firnanelty, S.Si., M.Si, selaku Pembimbing II. Terima kasih atas segala bimbingan, arahan dan bantuan selama berlangsungnya penelitian dan menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Aisyah, S.Si.,M.Si., selaku Penguji I dan Bapak Dr. Muhsin Mahfudz, M. Th. I. selaku Penguji agama. Terima kasih atas kritik dan saran yang diberikan.
7. Segenap Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah mendidik dan memberikan ilmu kepada penulis.
8. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
9. Seluruh laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, terkhususnya Ibu Nuraini, S.Si, selaku laboran di Laboratorium Organik atas masukan dan kesabaran meluangkan waktu yang diberikan selama proses penelitian berlangsung.
10. Kedua orang tua, ayahanda dan ibunda yang telah mendidik, mendukung dan mendoakan setiap langkah ananda dalam proses penyelesaian pendidikan hingga ke jenjang sekarang.
11. Rekan penelitianku yang senasib, seperjuangan dan sepenanggungan Aspina Damayanti dan Awaluddin yang telah menjadi teman berbagi segala keluh kesah dan senantiasa memberi dukungan bagi penulis.

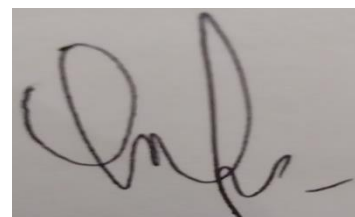
12. Rekan-rekan mahasiswa Jurusan Kimia Angkatan 2014 atas dukungannya selama ini. Semoga kalian semua menjadi orang yang mampu membagikan ilmunya dengan baik dan bermanfaat.
13. Senior angkatan 2012 dan 2013 juga Junior angkatan 2015, 2016 dan 2017 yang telah membantu penyelesaian skripsi
14. Keluarga besar bapak Hakim di Selayar yang senantiasa memberikan dukungan materil dan spiritual kepada penulis.
15. Teman-teman KKN Angkatan 58 Terkhusus posko Dusun Panambungang Desa Moncongloe Kecamatan Manuju Kabupaten Gowa yang selama ini memberikan dukungan.

Penulis menyadari masih begitu banyak kekurangan yaang terdapat dalam skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini.

Akhirnya, hanya kepada Allah swt. Kami bermohon semoga berkat dan rahmat serta limpahan pahala yang berlipat ganda selalu dicurahkan kepada kita semua dan semoga apa yang kita lakukan selaku mendapat ridha dan bernilai pahala disisi-Nya. Aamiin.

Makassar, 21 Oktober 2018

Penulis



Sahyuni Hamzah  
NIM. 60500114022

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>ii</b>
<b>PENGESAHAN SKRIPSI.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1-7</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	7
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Manfaat Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8-24</b>
A. Biota Laut .....	8
B. Spons.....	9



1. Morfologi Spons.....	10
2. Anatomi Spons .....	11
3. Cara Makan Spons .....	12
4. Pertumbuhan dan Lingkungan Hidup Spons.....	12
5. Reproduksi Spons.....	12
6. Senyawa Bioaktif Spons.....	13
C. Klasifikasi Spons.....	14
1. Kelas Hexactinellida .....	14
2. Kelas Calcarea .....	14
3. Kelas Demospongia .....	14
D. Spons <i>Stylotella</i> sp. ....	16
E. Metabolit Sekunder.....	18
1. Alkaloid .....	19
2. Terpenoid .....	20
3. Flavonoid .....	21
4. Steroid.....	21
F. <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	22
G. Kanker dan Komponen Senyawa Antikanker.....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25-31</b>
A. Waktu dan Tempat.....	25
B. Alat dan Bahan.....	25
1. Alat.....	25
2. Bahan .....	26
C. Prosedur Penelitian. ....	26



1. Sampling dan Preparasi Sampel. ....	26
2. Ekstraksi dan Isolasi. ....	27
3. Pemurnian. ....	27
4. Identifikasi . ....	28
a. Uji Kualitatif.....	28
1). Uji Flavonoid .....	28
a). Test dengan Asam Sulfat ( $H_2SO_4$ ) Peekat .....	28
b). Test dengan Natrium Hidroksida (NaOH) 10% ....	28
c). Test dengan Besi (III) Klorida ( $FeCl_3$ ) 5% .....	28
2). Uji Alkaloid.....	28
a). Test dengan Pereaksi Mayer .....	28
b). Test dengan Pereaksi Wagner.....	28
c). Test dengan Pereaksi Dragendorff .....	29
3). Uji Terpenoid .....	29
b. Karakterisasi dengan Spektrofotometer FTIR .....	29
5. Pengujian Toksisitas terhadap sel kanker MCF-7 .....	29
a. Preparasi Media.....	29
b. Preparasi Sel.....	30
c. <i>Seeding</i> Sel ke dalam 96 well plate .....	30
d. Perlakuan Sel dengan Sampel .....	30
e. Pemberian Reagen Presto Blue dan Pengukuran	
Absorbansi.....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>32-47</b>
A. Hasil .....	32

1.Ekstraksi .....	32
2.Fraksinasi .....	32
3.Pemurnian.....	33
4.Identifikasi.....	34
5.Karakterisasi dengan Spektroskopi FTIR .....	34
6.Uji Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 .....	35
<b>B. Pembahasan.....</b>	<b>36</b>
1.Ekstraksi .....	36
2.Fraksinasi .....	37
3.Pemurnian.....	39
4.Identifikasi.....	39
5.Karakterisasi dengan Spektroskopi FTIR .....	40
6.Uji Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara MCF7 .....	42
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>47</b>
A. Kesimpulan .....	46
B. Saran.....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>54</b>

### DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1. Keragaman Sponge di Perairan Kawasan Timur Indonesia Kelas Demospongiae subkelas Ceractinomorpha. ....	15
Tabel 4.1. Fraksinasi Kromatografi Kolom Cair Vakum (KKCV) .....	32
Tabel 4.2. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder Spons .....	34
Tabel 4.3. Hasil Serapan Spektroskopi FTIR.....	34
Tabel 4.4. Uji Toksisitas Isolat Spons Stylotella sp. ....	35
Tabel 4.5. Absorbansi Hasil Uji Sampel Isolat.....	35

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Sel Spons.....	11
Gambar 2.2. Spons <i>Stylotella</i> sp. ....	16
Gambar 2.3. <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FTIR).....	22
Gambar 2.4. Struktur <i>Makaluvamine</i> .....	24
Gambar 4.1. Hasil KLT fraksi pada KKG .....	33
Gambar 4.2. Hasil KLT Uji Sistem tiga eluen .....	33
Gambar 4.3. Dokumentasi Well Plate Hasil Uji Sampel Isolat .....	35
Gambar 4.4. Reaksi Alkaloid dengan Reagen Wagner.....	40
Gambar 4.5. Spektrum Serapan Spektroskopi FTIR Isolat Ekstrak Etil asetat Spons <i>Stylotella</i> sp. ....	41
Gambar 4.6. Spektrum Serapan Spektroskopi FTIR Isolat Spons <i>Xestospongia</i> sp. ....	41
Gambar 4.7. Mekanisme Reduksi Resazurin pada Sel .....	42
Gambar 4.8. Kurva Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat .....	44
Gambar 4.9. Dokumentasi Sel Hasil Uji.....	45

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Diagram Alir Isolasi Senyawa.....	32
Lampiran 2. Diagram Alir Pengujian Antikanker.....	33
Lampiran 3. Hasil Identifikasi Jenis Spons.....	34
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	34
Lampiran 5 Peralatan yang digunakan dalam Uji.....	34
Lampiran 6. Hasil KLT .....	34
Lampiran 7. Hasil Uji Antikanker.....	34

## ABSTRAK

Nama Penyusun : Sahyuni Hamzah  
NIM : 60500114022  
Judul Skripsi : Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat  
Spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar dan Uji Aktivitas  
terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7.

---

Spons *Stylotella* sp. merupakan salah satu jenis hewan invertebrata laut yang penyebarannya luas di wilayah laut Indonesia salah satunya di Kepulauan Selayar. Spons memiliki potensi sebagai obat pada masa mendatang karena kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder dan untuk mengetahui bioaktivitas senyawa r terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang terdapat pada ekstrak etil asetat Spons *Stylotella* sp. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi, fraksinasi dan pemurnian. Uji kemurnian dilakukan dengan uji tiga sistem eluen pada KLT yaitu eluen kloroform:etil asetat (9:1), eluen n-heksan:aseton (8:2), eluen kloroform:aseton (9:1). Isolat murni kemudian diuji kualitatif dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Hasil menunjukkan bahwa isolat murni mengandung senyawa alkaloid sedangkan uji aktivitas terhadap sel MCF-7 dengan menggunakan metode kolorimetri menunjukkan nilai  $IC_{50}$  14987,50  $\mu\text{g/mL}$  yang berarti tidak bersifat toksik.

Kata kunci: Alkaloid,  $IC_{50}$ , Isolasi, sel MCF-7, Spons *Stylotella* sp.

## ABSTRACT

Author's name : Sahyuni Hamzah

NIM : 60500114022

Thesis title : Isolation of Secondary Metabolites Compound of Ethyl

Acetate Extract sponge *Stylotella* sp. Selayar origin and Test

Activities against Breast Cancer Cells MCF-7.

---

Sponge *Stylotella* sp. is one type of marine invertebrate animals, that spread widely in Indonesian waters one of them in the Island of Selayar. Sponge has potential as a drug in the future because of the content of secondary metabolites produced. This study aims to determine the type of secondary metabolites and bioactivity of compounds to determine r against breast cancer cells MCF-7 contained the ethyl acetate extract Sponge *Stylotella* sp. The method used in this study is the extraction, fractionation and purification. Purity test is done by testing three systems on TLC eluent namely eluent chloroform: ethyl acetate (9: 1), eluent n-hexane: acetone (8: 2), eluent chloroform: acetone (9: 1). Pure isolates were then tested qualitative and characterized by a spectrophotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). The results showed that pure isolates containing alkaloids while testing activity against MCF-7 cells using a colorimetric method showed  $IC_{50}$  14987.50 mg / mL, which means not toxic.

Keywords: Alkaloids,  $IC_{50}$ , Isolation, MCF-7 cells, sponges *Stylotella* sp.



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### **A. Latar Belakang**

Laut merupakan bagian terluas dari bumi yang menjadikannya sebagai habitat jutaan spesies. Lautan Indonesia merupakan wilayah indopasifik dan sebagai salah satu titik penyebaran biota laut dengan keanekaragaman terbesar (Sumaryono, dkk., 2005). Indonesia merupakan negara kepulauan dengan garis panjang pantai sekitar 81.000 Km (Wewengkang, dkk., 2014) dengan perbandingan luas lautan dan daratan 7:3, hal ini menjadikan Indonesia memiliki potensi keanekaragaman hayati laut sehingga memberi peluang yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri termasuk makanan, zat warna, kosmetik dan kesehatan (Handayani, dkk., 2010).

Selayar termasuk salah satu kepulauan di Indonesia yang memiliki keanekaragaman biota laut yang tinggi, hal ini disebabkan banyak ditemukannya terumbu karang dan tumbuhan lamun. Selain itu, letak geografis kepulauan selayar yang membujur dari Selat Bira sampai Laut Flores menyebabkan luas wilayah perairannya lebih luas daripada daratannya yaitu sekitar 21.138,41 km<sup>2</sup> (94,68%) sedangkan wilayah daratannya sekitar 1.188,28 km<sup>2</sup> (5,32%) (Firman, 2010) hal ini menjadikan Kepulauan Selayar memiliki keunggulan yang bersifat komparatif di bidang sumber daya alam yang dapat dikelola untuk kesejahteraan manusia (Suryati, 1996), sebagaimana yang terdapat pada firman Allah SWT pada Q.S. al-Nahl/ 16: 14 yang menjelaskan mengenai manfaat dan potensi laut dalam kehidupan manusia

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا

وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاحِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ ۚ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿٢٠﴾

Terjemahnya:

“Dan Dialah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daging yang segar (ikan) darinya, dan (dari lautan itu) kamu mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai. Kamu (juga) melihat perahu berlayar padanya, dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya, dan agar kamu bersyukur.” (Kementrian Agama, 2010).

Ayat di atas menguraikan apa yang terdapat di dalam air, ayat ini menyatakan bahwa : Dan Dia, yakni Allah swt., yang menundukkan lautan dan sungai serta menjadikannya tempat hidup binatang dan tempatnya tumbuh berkembang serta pembentukan aneka perhiasan. Dijadikan demikian agar manusia dapat menangkap ikan dan sebangsanya yang berdiam di laut sehingga dapat dimakan serta nikmat lainnya berupa perhiasan-perhiasan yang berasal dari dalam laut, seperti biji-biji mutiara, emas, permata, marjan dan lain sebagainya (Shihab, 2002).

Para peneliti melakukan penelitian mengenai biota laut baik dalam mengklasifikasi, isolasi, karakterisasi dan pengujian aktivitas terhadap senyawa bahan alam yang berasal dari laut. Peneliti memanfaatkan senyawa bioaktif bahan alam berdasarkan sifat biologisnya dengan cara mensintesis dan dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Faizal, dkk., 2014). Pengobatan dengan memanfaatkan bahan alam telah berlangsung sejak ribuan tahun yang lalu, baik dengan cara memanfaatkan

ekstrak kasar secara konvensional hingga masa kini dimana bahan alam dapat diperoleh dalam bentuk isolatnya dari hasil proses isolasi.

Keanekaragaman molekul yang sangat tinggi pada biota laut ini disebabkan oleh perubahan suhu ekstrim, salinitas, tekanan, serta penyebaran virus dan patogen (Herdiansyah, dkk., 2015). Organisme laut khususnya invertebrata memiliki kandungan senyawa kimia terbanyak dibandingkan tumbuhan laut. Contoh invertebrata Spons laut (Filum Porifera), Hewan lumut (Filum Bryozoa), *Soft Coral* (Filum Cnidaria) dan Hewan bermantel (Filum Tunicata) (Handayani, dkk., 2010). Sebagai biota laut yang tidak bertulang belakang spons menempati urutan pertama sebagai sumber senyawa kimia yang memiliki bioaktivitas, yang dikenal sebagai senyawa bioaktif (Muniarsih, 2003).

Telah dilaporkan dalam beberapa dekade terakhir bahwa telah ditemukan 50% senyawa bioaktif yang berasal dari invertebrata laut khususnya dari filum Porifera (Asaf, dkk, 2012). Berbagai senyawa kimia yang telah berhasil diisolasi dari spons yaitu alkaloid, terpenoid, poliketida, acetogenin dan lain-lain (Muniarsih, 2003). Ekstrak metabolit sekunder dari spons memiliki sifat bioaktivitas sebagai sitotoksik, antitumor, antileukimia, antivirus, antibakteri, antifungi, *immunomodulator*, dan antiinflamasi (Suparno, 2005). Sebagaimana firman Allah SWT pada Q.S. Shaad/ 38: 27 yang menjelaskan tidak ada penciptaan yang sia-sia.

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ

لِّلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٣٨﴾

Terjemahnya:

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan sia-sia. Itu anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang yang kafir itu karena mereka akan masuk neraka” (Kementrian Agama, 2010).

Ayat di atas menyatakan : Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi serta apa yang ada antara keduanya seperti udara, dan tentu tidak juga Kami menciptakan kamu semua dengan batil yakni sia-sia tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir dan karenanya mereka berkata bahwa hidup berakhir di dunia ini, tidak akan ada perhitungan, juga tidak ada surga dan neraka, maka kecelakaan yang amat besar menimpa orang-orang kafir akibat dugaannya itu karena mereka akan masuk neraka. Allah SWT menciptakan langit dan bumi juga segala yang ada di antara keduanya dengan tata aturan yang demikian rapi, indah serta harmonis. Ini menunjukkan bahwa Dia tidak bermain-main yakni tidak menciptakannya secara sia-sia tanpa arah dan tujuan yang benar (Shihab, 2002).

Seandainya penciptaan alam ini tanpa tujuan yang haq, maka itu berarti apa yang dilakukan Allah swt. menyangkut kehidupan dan kematian makhluk, serta penciptaan serta pemusnahannya, semua dilakukan-Nya tanpa tujuan. Tetapi karena itu bukan permainan, bukan juga tanpa tujuan, maka pasti yang Maha Kuasa itu membedakan antara yang berbuat baik dan buruk, lalu memberi ganjaran balasan sesuai amal perbuatan masing-masing (Shihab, 2002).

Firman Allah swt. di atas telah dibuktikan bahwa spons memiliki keanekaragaman dan telah dipublikasikan sekitar 7000 jenis (Handayani, dkk., 2012) sehingga hal ini menjadi peluang ditemukannya senyawa bioaktivitas yang lebih banyak lagi di masa mendatang dan dapat dimanfaatkan dalam bidang pengobatan.

Menurut Wewengkang, dkk (2014), diperkirakan terdapat 830 jenis spons yang tersebar di wilayah laut Indonesia. Pemanfaatan spons tidak maksimal serta keberadaanya masih dianggap sebagai limbah. Menurut Suparno (2005) terdapat beberapa kendala yang dihadapi dalam penelitian biota laut di Indonesia yaitu peta penyebaran mengenai keberadaan biota laut belum ada, kurangnya informasi tentang biota laut serta habitatnya, tidak meratanya fasilitas penelitian berupa saran dan prasarana serta pakar penelitian dan kurangnya ahli taksonomi dibidang tertentu contohnya ahli spons. Selain itu Menurut Oscar Schmidt (dalam Erpenbeck, 2004), terdapat kesulitan dalam mengelompokkan spons karena organisme tersebut memiliki bentuk yang sangat sederhana, terdapat ketidakpastian dalam sistematika spons yang masih ditemui hampir pada semua tingkat taksonomi, hal ini menjadi faktor kepada peneliti untuk meneliti kandungan kimia spons yang dapat dijadikan sebagai obat berpotensi, salah satunya adalah jenis Spons *Stylotella*.

Beberapa tahun terakhir, di luar wilayah Indonesia banyak penemuan senyawa baru dari spons genus *Stylotella* yang berpotensi sebagai obat. Beberapa di antaranya yaitu penemuan senyawa *cycloheptapeptide* yang diberi nama *stylostatin 1* memiliki bioaktivitas sitotoksik, senyawa ini diisolasi dari spons laut jenis *Stylotella aurantium* yang berasal dari perairan papua nugini (Pettit dkk., 1992).

Menurut Chumko dkk. (2016), spons *Stylotella* termasuk dalam famili Halichondriidae yang diketahui secara umum sebagai spons mangga karena rata-rata berwarna orans terang, bertekstur lembut dan mengandung senyawa metabolit *dichloroimine* (Simpson dkk, 1997).

Menurut Faturoso (2012), dua jenis spons genus *Stylotella* *agminata* dan *Stylotella aurantium* berpotensi sitotoksik terhadap beberapa sel kanker dengan IC<sub>50</sub>

0,1-10  $\mu\text{g/mL}$ . Adapun penemuan senyawa Axinellin yang diperoleh dari fraksi diklorometan Spons *Stylorella* dari Kepulauan Fiji memiliki aktivitas antikanker dengan nilai  $\text{ID}_{50}$  0,47 dan 0,45  $\mu\text{g/mL}$  yang dapat melawan tumor ovarium A2780 dan sel kanker leukemia K562 (Tabudravu, dkk., 2001). Ditemukan 5 senyawa baru seskuiterpen yang diisolasi dari ekstrak aseton Spons *Stylorella aurantium* yang berasal dari Iromote Island kemudian dipartisi dengan etil asetat-air, 4 diantaranya menunjukkan aktivitas sitotoksik dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  antara 0,1-1  $\mu\text{g/mL}$  yang dapat melawan sel tumor (Musman, dkk., 2001).

Isolasi senyawa baru prolin dekapeptida yang disebut Stylopeptida dan Stylostatin dari ekstrak diklorometan-metanol spons *Stylorella* sp. yang dapat melawan aktivitas dari sel leukemia P388 dengan nilai  $\text{ED}_{50}$  1,5  $\mu\text{g/mL}$  (Brennan, dkk., 2000). Senyawa isosianida dan Stylotellin dari spons *Stylorella* sp. yang diekstrak dari metilen klorida (Pais, dkk., 1987). Ditemukan 2 senyawa seskuiterpen yang diberi nama sebagai Stylotellanes A dan B dari ekstrak kasar Spons *Stylorella aurantium* yang berasal dari laut Fijian dapat menghambat secara lemah pertumbuhan sel leukemia P388 (Simpson, dkk., 1997). Turunan senyawa 4,5-dibromo diperoleh dari ekstrak metanol spons *Stylorella aurantium* secara selektif dapat melawan sel melanoma dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  0,25  $\mu\text{g/mL}$  (Kinnel, dkk., 1998) dan senyawa Wainunumida yang diisolasi dari ekstrak diklorometan sebagai senyawa sitotoksik yang dapat melawan kanker (Mosmann, 1983).

Spons *Stylorella* diketahui memiliki senyawa alami yang bervariasi seperti *Axinellin C*, *Wainunumida* dan *Styloguanidines*. Telah disebutkan bahwa penelitian mengenai kajian aktivitas biologi yang berasal dari spons *Stylorella aurantium* jarang dilaporkan (Chumko dkk., 2016). Beberapa senyawa bioaktif spons *Stylorella*



diperoleh dari ekstrak semi polar, sehingga memungkinkan untuk ditemukan lagi senyawa bioaktif menggunakan pelarut semi polar.

Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etil Asetat Spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar dan uji aktivitas terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7.

### **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apa jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etil asetat spons *Stylotella* sp. ?
2. Bagaimana bioaktivitas senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etil asetat spons *Stylotella* sp. terhadap sel kanker payudara MCF-7 ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan pada penelitian ini yaitu

1. Untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etil asetat spons *Stylotella* sp.
2. Untuk mengetahui bioaktivitas senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat spons *Stylotella* sp. terhadap sel kanker payudara MCF-7.

### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat pada penelitian ini yaitu

1. Diharapkan hasil pada penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.



2. Diharapkan hasil penelitian ini memberikan informasi kepada pembaca bahwa spons merupakan salah satu biota laut yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber obat-obatan.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### **A. Biota Laut**

Biota laut seperti koral, spons, ikan dan mikroorganisme dalam beberapa tahun terakhir telah menjadi objek penelitian untuk senyawa yang memiliki aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, antivirus dan antikanker (Haeria, 2014). Sebagaimana yang terdapat pada firman Allah SWT pada Q.S. al-Maidah/ 5: 96 yang menjelaskan bahwa laut sebagai sumber kehidupan dimana didalamnya terdapat makanan yang dihalalkan sehingga dapat digunakan dalam berbagai bidang industri.


 أُحِلَّ لَكُمْ صَيْدُ الْبَحْرِ وَطَعَامُهُ مَتَعًا لَكُمْ وَلِلسَّيَّارَةِ وَحُرِّمَ عَلَيْكُمْ صَيْدُ الْبَرِّ  
 مَا دُمْتُمْ حُرُمًا وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي إِلَيْهِ تُحْشَرُونَ ﴿٩٦﴾

Terjemahnya:

“Dihalalkan bagimu hewan buruan laut dan makanan (yang berasal) dari laut sebagai makanan yang lezat bagimu, dan bagi orang-orang yang dalam perjalanan dan diharamkan atasmu (menangkap) hewan darat, selama kamu sedang ihram. Dan bertakwalah kepada Allah yang kepada-Nya kamu akan dikumpulkan (kembali)” (Kementrian Agama, 2010).

Dengan ayat ini dibukakanlah seluas-luasnya tentang halalnya segala jenis binatang yang hidup di laut atau dalam air. Segala macam ikan, kepiting, ambai-ambai, teripang dan sebagainya. Mengenai makanan laut yang telah disebutkan dalam ayat tersebut, dijelaskan oleh Hadis-hadis Abu Hurairah dan keterangan dari Abu Bakar, dan Umar dan Ibnu Abbas dan Abu Ayub dan Jabir bin Abdullah, yang

semuanya merupakan sahabat Rasulullah SAW. yang dimaksud tentang makanan laut, sebagai tambahan dari buruan laut tadi, ialah ikan atau isi laut yang lain, yang diantarkan ombak atau dibawa air pasang naik ke tepi dan setelah surut dia tinggal, baik hidup ataupun mati, semuanya halal dimakan. Jadi ayat ini dapat disimpulkan artinya demikian: “Dihalalkan bagi kamu pergi menangkap ikan ke laut dengan segala macam alatnya, seumpama jaring, kail, pukot, jala, pasap dan sebagainya. Dihalalkan bagi kamu seluruh hasil buruan itu ataupun makanan dari seluruh binatang laut, yang didapat bukan karena dikail, baik kail orang lain ataupun kail kamu sendiri (Hamka, 1983).

Menurut Suwignyo, dkk (2005), terdapat beberapa filum dari biota laut avertebrata yaitu filum *Protozoa*, *Coelenterate*, *Ctenophore*, *Platyhelminthes*, *Rhynchocoela*, *Entoprocta*, *Rotifera*, *Kinorhyncha*, *Gastrotricha*, *Nematoda*, *Bryozoa*, *Echiura*, *Brachiopoda*, *Molusca* dan *Porifera*. Klasifikasi biota laut pada dasarnya ditinjau dari sifat hidup, habitat dan gerakan berjalan bukan dari ukuran besar kecilnya (Nybakken, 1993).

## **B. Spons**

Porifera digolongkan kedalam hewan yang bersel banyak tetapi memiliki bentuk paling sederhana atau primitif karena tidak memiliki jaringan sejati, organ serta sel-sel tidak tersusun dengan baik. Dalam klasifikasi, porifera termasuk hewan walaupun bersifat menetap (Suwignyo, dkk., 2005) dan termasuk dalam sebuah grup hewan yang sangat berbeda dengan tipe lainnya (Lytle dan Meyer, 2005).

Spons termasuk dalam filum porifera yang berasal dari bahasa latin, *porus* berarti pori sedangkan *fer* berarti pembawa (Asro, dkk., 2013). Spons termasuk biota laut yang memiliki keanekaragaman jenis sehingga memiliki berbagai karakteristik

senyawa bioaktivitas, diantara biota laut spons kaya akan senyawa metabolit sekunder dan populasinya yang luas menjadikannya sebagai objek penelitian yang menarik untuk dikaji. Menurut Wewengkang, dkk (2014), spons memiliki potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan dan merupakan komponen penyusun terumbu karang.

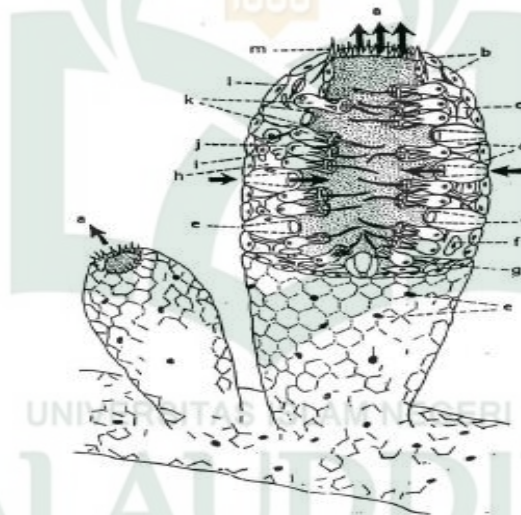
Menurut Asaf, dkk (2012), spons terdiri atas 10.000 spesies dan biasanya ditemukan kesulitan dalam identifikasi disebabkan adanya perbedaan bentuk dari spons yang sama pada setiap habitatnya. Lingkungan hidup tempat tinggal spons bukan hanya mempengaruhi bentuk tetapi juga mempengaruhi keaktifan senyawa metabolit sekunder (Hafidzah, 2011).

### **1. Morfologi Spons**

Spons dapat dijumpai dengan bentuk dan warna yang beraneka ragam, hal ini disebabkan adanya *zooxanthellae* yang hidup dalam jaringan spons (Pratiwi, 2006). Selain itu, morfologi spons dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu faktor kimiawi, fisik dan biologis lingkungannya. Ukuran dan bentuk spons bervariasi sebagai akibat dari lingkungannya misalnya spons cenderung pendek pertumbuhannya apabila hidup di daerah dangkal dan berombak besar. Spons dari spesies yang sama tetapi berasal dari lingkungan yang berbeda yaitu laut dalam dan berarus tenang memiliki bentuk lebih tinggi dan tegak. Spons terdiri atas berbagai bentuk dan ukuran, spons memiliki bentuk yang beragam seperti berbentuk percabangan seperti pohon, berbentuk kubah dan cawan. Adapun ukuran spons yang beragam mulai dari bentuk jarum pentul dan terdapat juga jenis yang memiliki ukuran garis tengah 0,9 m dan tebalnya mencapai 30,5 cm. Beberapa spons memiliki bulu getar yang disebabkan oleh spikula yang menyembul keluar dari badannya (Suparno, 2005).

## 2. Anatomi Spons

Spons terdiri dari spikula, ostia, oskula dan *choanocyte*. Menurut Harrison (2000), spikula merupakan gambaran karakteristik spons yang memiliki fungsi utama dalam membentuk rangka pendukung spons. Adapun ostia sebagai saluran masuknya air dari lingkungan ke dalam tubuh spons, oskula sebagai saluran pembuangan dan saluran keluarnya sperma dan ovum dan *choanocyte* berfungsi menggerakkan silia untuk aliran air yang masuk ke dalam tubuh spons dan membawa sari makanan serta dalam menangkap sperma (Ackers, 2007).



**Gambar 2.1 Struktur sel sponge yang paling sederhana a) oskulum; b) sel penutup; c) sel amoebosit; d) sel pori (porosity); e) pori saluran masuk (ostia); f) telur; g) spikula triaxon; h) mesohil; i) sel mesenkin; j) bulu cambuk (*flagella*); k) sel kolar (*choanocytes*); l) sklerosit; dan m) spikula monoaxon (Sumber: Amir, 1996).**

### 3. Cara Makan Spons

Spons merupakan salah satu organisme multiseluler yang tidak memiliki tulang belakang (Setyowati, dkk., 2007). Selain itu spons termasuk dalam kelompok porifera dan *filter feeder* yaitu hewan laut yang berpori dan memiliki cara makan dengan cara menyaring air laut yang mengandung mikroorganisme (Abubakar, dkk., 2011).

### 4. Pertumbuhan dan Lingkungan Hidup Spons

Menurut Pratiwi (2006), sebagian besar spons hidup di laut dan hanya sebagian kecil yang hidup di air tawar. Bentuk pertumbuhan spons dan metabolit sekunder dipengaruhi oleh beberapa faktor ekologis seperti kedalaman air, arus, suhu kandungan nutrisi dan tingkat sedimentasi serta keadaan organisme predator yang hidup di sekitar spons, semakin banyak predator maka menyebabkan spons menjadi stress dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder untuk dapat bertahan hidup, sehingga dikatakan spons sebagai hewan yang memiliki kemampuan untuk beradaptasi terhadap lingkungan tempat tinggal yang telah mengalami kerusakan (Asaf, dkk., 2012), karena spons memiliki waktu hidup yang lama dan dapat bertahan hidup pada lingkungan ekstrim sehingga spons dijadikan sebagai indikator pencemaran logam berat pada perairan (Siahaya, dkk., 2014).

### 5. Reproduksi Spons

Spons dapat melakukan reproduksi baik secara seksual yang melibatkan sel telur dan sel sperma maupun secara asexual yang pada umumnya dengan cara fragmentasi (Amir dan Budiyo, 1996). Pada umumnya spons berkelemin ganda atau dikenal dengan istilah hermaprodit. Namun, dalam memproduksi sel telur dan

sel sperma terjadi pada waktu yang berbeda. Sedangkan secara fragmentasi, potongan-potongan spons yang patah dapat hidup dengan memanfaatkan cadangan makanan yang terdapat di dalam tubuh dan hidup sebagai individu baru dan bergenerasi membentuk tunas yang baru untuk menjadi spons dewasa (Bergquist, 1978).

## 6. Senyawa Bioaktif Spons

Telah disebutkan bahwa spons menempati tempat pertama dari 434 struktur senyawa kimia yang memiliki sifat antitoksik yaitu sebesar 193 senyawa dibandingkan moluska, alga dan biota laut lainnya (Setyowati, dkk., 2007). Selain itu, menurut Sipkema, dkk (2009) telah ditemukan 11% senyawa sitotoksik dari ribuan spesies spons yang diuji dan persentasenya lebih tinggi dibandingkan dengan organisme laut lainnya hal ini disebabkan karena spons memiliki hubungan dengan beragam mikroba.

Senyawa sitotoksik termasuk dari metabolit sekunder, contoh metabolit sekunder lainnya yang telah diidentifikasi dari spons yaitu Sequiterpenoid *hydroquinone avarol* yang diisolasi dari spons laut *Dysidea avara* (Sipkema, dkk., 2009).

Senyawa metabolit sekunder lainnya yang diisolasi dari spons yang bersifat sebagai antimikroba yaitu *aerophysinin-1*, *strongylophorines*, *chromodorolide A*, *muqubilin*, *sigmosceptrellin-A*, *oroidin*, *aaptamine*, *demethylaaptamine*, senyawa *N-amidino-4-bromo-pyrole-2-carboxamide*, senyawa *3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl-acetamide*, dan *4-acetamido-2,6-dibromo-4-hydroxy-cyclohexadienon*. Selain itu terdapat pula beberapa senyawa yang bersifat sebagai antikanker diantaranya yaitu



*spongouridin, spongothymidine, avaro, avaron, adociaquinon B, bistratamide D, dan makaluvamine N* (Muniarsih, 2003).

### **C. Klasifikasi Spons**

Menurut Amir dan Budiyanto (1996), spons dapat dibagi kedalam 3 kelas, yaitu Demospongiae, Hexactinellida dan Calcarea.

#### **1. Kelas Hexactinellida**

Kelas Hexactinellida biasanya disebut sebagai spons gelas, pada umumnya berwarna pucat, biasanya berbentuk vas bunga atau mangkok, spikulanya tersusun atas silikat, memiliki tinggi tubuh sekitar 10-30 cm, habitatnya tersebar luas di laut dan hanya terdapat di kedalaman < 500 m sehingga jarang dieksplor (Amir dan Budiyanto, 1996).

#### **2. Kelas Calcarea**

Kelas Calcarea memiliki sedikit kesamaan dengan kelas Hexactinellida yaitu semuanya hidup di laut dan berwarna pucat. Adapun ciri-ciri lainnya berbentuk vas, silinder atau kendi, spikula tersusun dari kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) dalam bentuk calcite, memiliki struktur paling sederhana dibanding yang lain dan tinggi tubuh kurang dari 10 cm (Amir dan Budiyanto, 1996).

#### **3. Kelas Demospongiae**

Menurut Hooper (2002), kelas Demospongiae yang paling banyak ditemukan diperairan laut dangkal hingga laut dalam dan ada juga yang hidup di air tawar, sekitar 90% spons yang berada dilaut termasuk dalam kelas Demospongiae. Spons kelas ini berbentuk masif tidak beraturan, berwarna cerah dengan saluran air yang rumit, pada umumnya spikula tersusun atas silikat tetapi ada beberapa ordo hanya terdiri atas

serat sponging dan kolagen, tinggi tubuh pada umumnya mencapai lebih dari 1 m (Suparno, 2005).

**Tabel 2.1** Keragaman Sponge di Perairan Kawasan Timur Indonesia Kelas Demospongiae subkelas Ceractinomorpha (Rahmat, 2006).

No.	Ordo	Famili	Spesies
1.	Poecilosclerida	Raspailiidae	Echinodictyum Flabelliformis Aulospongos clathricides
		Microcionidae	Clathria sp
		Rhabderemiidae	Rhabderemia sorokinase
2.	Verongida	Ianthellidae	Ianthella basta
		Druinellidae	Pseudoceratina sp.
3.	Agelasida	Agelasidae	Agelas sp.
4.	Halichondria	Halichondriidae	Axinyssa sp. Reniochalina sp. Stylotella aurantium Spirastella cunctatii
5.	Dendroceratida	Dysideidae	Dysidea sp. Dysidea cf. frondosa Dysidea nigrescen
		Dictyonellidae	Liosina sp. Liosina paradoxa
		Halisarcidae	Halisarca sp.
6.	Haplosclerida	Petrosidae	Xestospongiosia sp Xestospongia testudinaria Xestospongia berquistia Petrosia sp. Neopetrosia Longley Gellius arcuarius
		Niphatidae	Cribrochalina sp.

#### **D. Spons *Stylotella* sp.**

*Stylotella* merupakan salah satu jenis sponge yang termasuk dalam kelas Demospongia (Rahmat, 2006). Menurut Suparno (2005), tubuh spons Demospongia berwarna cerah karena mengandung pigman yang terdapat pada amoebosit sebagaimana warna dari spons *Stylotella* berwarna orens hingga kuning.



**Gambar 2.2 *Stylotella* sp.  
(Sumber: Yasakti, 2017)**

Menurut hasil identifikasi Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Hasanuddin (2018), klasifikasi spons *Stylotella* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Porifera
Class	: Demospongiae
Order	: Halichondrida
Family	: Halichondriidae
Genus	: <i>Stylotella</i>
Species	: <i>Stylotella</i> sp.

Menurut Haedar dkk (2016), dari penelitian yang dilakukan spons *Stylotella* dapat ditemukan di daerah reef flat yaitu sekitar 2, 4 dan 9 m yang disertai kondisi perairan yang jernih sehingga kesimpulan dari penelitiannya *Stylotella* memiliki frekuensi kemunculan tertinggi yaitu sebesar 100% dibandingkan jenis spons lainnya. Sedangkan kedalaman terbaik untuk pertumbuhan spons *Stylotella* adalah kedalaman 3 m, kedalaman memiliki pengaruh terhadap pertumbuhannya (Asro, 2012). Spons jenis *Stylotella* ditemukan diperairan yang jernih dan tidak keruh karena spons tersebut hidup di perairan yang bersirkulasi baik (Romimohtarto dan Juwana, 2001).

Senyawa yang berhasil diisolasi dari spons *Stylotella* yang berasal dari laut Fijian yaitu senyawa siklik heptapeptida wainunuamida cyclo-L-. Senyawa ini menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik yang moderat (Tabudravu dkk, 2001). Menurut Himaja (2009), Selain itu sintesis dari senyawa tersebut juga memiliki aktivitas antikanker yang dapat melawan sel kanker HeLa.

Spons *Stylotella* termasuk dalam ordo Halichondrida dan menurut Simpson dkk, (1997), spons laut dengan ordo Axinellida, Halichondrida dan Haplosclorida terkadang mengandung senyawa bioaktif terpenoid dengan isoanida, isosianat dan gugus formamida.

Selain itu peneliti telah berhasil menemukan enzim spesifik dari spons *Stylotella* melalui proses isolasi dan elusidasi struktur dari tiga inhibitor senyawa baru *chitinase* yang berpotensi sebagai zat *antifouling* dari sponge *Stylotella* aurantium yang berasal dari laut Yap (Kato dkk., 1995). *Chitinase* yang terdistribusi luas pada mikroorganisme, tumbuhan, serangga dan krustasea adalah senyawa spesifik dan enzim dari krustasea melalui hidrolisis chitin (Koga dkk., 1987 dalam Kato dkk., 1995).

Ditemukan juga senyawa *Axinellin C*, *prolin* dan *cyclic octapeptide* yang diisolasi dari spons *Stylorella aurantium* yang berasal dari laut Fijian. Menurut Pettit dkk (1992), ditemukan senyawa penghambat pertumbuhan sel yaitu *cycloheptapeptide axinastatin* dan *cyclooctapeptide hymenistatin* di pulau Caroline barat.

Adapun senyawa aktif yang berpotensi sebagai zat antelmintika dan memiliki potensi melawan parasit nematode yang berhasil diisolasi dari spons *Stylorella aurantium* yaitu *taurin*, *trigonelline*, *jaspamida* dan *zooanemonin* (Sotheesworan, 2011).

#### **E. Metabolit Sekunder**

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa hasil dari proses metabolisme yang bersifat unik karena setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda bahkan kemungkinan satu spesies di dalam suatu kingdom hanya memproduksi suatu jenis senyawa tertentu saja yang berbeda dari jenis lainnya (Raharjo, 2013).

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang memiliki bioaktivitas dan dapat menjaga tumbuhan tersebut dari serangan hama penyakit dan predator (Lenny, 2006) tetapi tidak berdampak langsung pada kelangsungan hidup suatu organisme seperti pertumbuhan normal, perkembangan maupun kemampuan untuk memproduksi (Haeria, 2014). Metabolit sekunder dapat dijadikan sebagai sumber sebagai penemuan obat-obat baru (Atun, 2014).

Metabolit sekunder dapat diklasifikasikan ke dalam empat kelompok besar yaitu golongan terpenoid meliputi senyawa yang mudah menguap (volatil), golongan alkaloid yang memiliki ciri khas atom nitrogen yang bersifat basa, golongan fenolik

meliputi flavonoid dan stilben serta steroid meliputi kolesterol dan hormon-hormon adrenal. Selain itu metabolit sekunder dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai klasifikasi menurut karakteristik kimia, asal biosintesisnya dan sumber bahan alam (Ilyas, 2013).

Senyawa metabolit sekunder misalnya terpenoid, steroid, kumarin, flavonoid dan alkaloid. Senyawa kimia sebagai hasil metabolit sekunder atau metabolit sekunder telah banyak digunakan sebagai zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan dan sebagainya serta sangat banyak jenis tumbuh-tumbuhan berkhasiat dan mengetahui senyawa kimia yang berfungsi sebagai obat. Senyawa metabolit sekunder dapat diperoleh dan diuji aktivitasnya dengan cara isolasi dan identifikasi (Lenny, 2006).

### **1. Alkaloid**

Alkaloid merupakan salah satu golongan senyawa organik yang paling banyak penemuannya di alam (Astuti, 2007). Penggunaan alkaloid telah berlangsung dari 4000 SM yang ditunjukkan oleh bukti arkeologi (Ilyas, 2003). Menurut Harborne dan Turner (1984), tidak ada satupun definisi dari alkaloid yang memuaskan tetapi dapat dikatakan bahwa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dan memiliki satu atau lebih atom nitrogen dengan pasangan elektron bebasnya, berbentuk heterosiklik dan memiliki keaktifan biologis.

Pada umumnya alkaloid berwujud padatan kristal yang memiliki titik lebur tertentu. Sebagian besar senyawa alkaloid disintesis dari obat-obatan selain itu strukturnya ditemukan dari berbagai struktur, yakni dari struktur yang sederhana hingga yang paling rumit (Ilyas, 2003). Telah ditemukan lebih dari 27.000 struktur alkaloid dan 21.000 berasal dari tumbuhan (Haeria, 2014).



Sebagian besar alkaloid bereaksi dengan alkil halida membentuk kristal. Garam alkaloid berbeda sifatnya dengan alkaloid bebas. Alkaloid bebas biasanya tidak larut dalam air (beberapa dari golongan pseudo dan proto alkaloid larut), tetapi mudah larut dalam pelarut organik yang agak polar (seperti benzena, eter, kloroform). Alkaloid bentuk garam mudah larut dalam pelarut organik polar (Astuti, 2007).

Menurut Ilyas (2013), alkaloid berkaitan dengan berbagai aktivitas farmakologis, dari yang bersifat sebagai racun bahkan dalam jumlah yang sedikit hingga obat yang berkaitan dengan sistem syaraf seperti antidepresan dan halusinogen, aktivitas ini yang menyebabkan alkaloid memiliki beberapa manfaat bagi tumbuhan dan hewan diantaranya sebagai senyawa toksik terhadap serangan predator, sebagai faktor pertumbuhan dan juga sebagai cadangan makanan. Sumber alkaloid adalah tanaman berbunga, angiospermae, hewan, serangga, organisme laut, mikroorganisme. Famili tanaman yang mengandung alkaloid adalah *liliaceae*, *rubiacae*, *salanaceae*, *papaveraceae* (Astuti, 2007).

## **2. Terpenoid**

Terpenoid merupakan senyawa bahan alam terbesar dan paling beragam (Ilyas, 2013). Istilah terpen merujuk pada campuran hidrokarbon yang berasal dari minyak esensial (Haeria, 2014), senyawa ini dikenal memiliki bau khas yang berasal dari komponen tumbuhan yang dikenal sebagai minyak atsiri, senyawa ini mengandung atom karbon, hidrogen dan oksigen (Lenny, 2006) dan pada umumnya memiliki gugus hidroksil, keton dan aldehid (Tukiran, 2014)

Terpenoid dapat ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Haeria, 2014) dan diperoleh dengan cara isolasi bahan alam menggunakan teknik penyulingan (Lenny,



2006). Struktur terpenoid terdiri atas unit isoprene yang terhubung antara kepala ke ekor dan disebut sebagai isopren (Tukiran, 2014).

### **3. *Flavonoid***

Flavonoid adalah senyawa fenol yang penyebarannya banyak di alam biasanya sebagai zat pemberi warna pada tumbuhan seperti warna ungu, merah hingga kuning (Tukiran, 2014). Kelompok utama dari senyawa ini yaitu fenol sederhana, fenil propanoid, poliketida dan stilben (Ilyas, 2013).

Pada saat ini diperkirakan terdapat sekitar 3.000 senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi dan diteliti memiliki berbagai macam bioaktivitas, seperti antiinflamasi, antikanker, antifertilitas, antiviral, antidiabetes, antidepresant, diuretik, dan lain-lain (Tukiran, 2014).

### **4. *Steroid***

Steroid adalah salah satu metabolit sekunder dengan kerangka dasar siklopentanoperhidrofenantrena yang tersusun atas empat cincin terpadu (Tukiran, 2014). Secara biogenesis steroid terbentuk dari jalur yang sama dengan terpenoid, tetapi memiliki fungsi dan struktur yang berbeda (Ilyas, 2013).

Steroid terdapat pada hewan dan tumbuhan, senyawa yang termasuk dalam steroid biasanya hormon-hormon seks pada pria dan wanita (Ilyas, 2013). Selain itu vitamin D, asam empedu, kolesterol dan sapogenin juga termasuk golongan senyawa ini (Haeria, 2014).

### **F. *Fourier Transform Infra Red (FTIR)***

FTIR merupakan salah satu alat instrumen yang digunakan untuk menganalisis senyawa berdasarkan gugus fungsi khususnya senyawa organik

(Kristianingrum, 2010). Alat ini memiliki infra merah yang dapat mendeteksi keberadaan gugus fungsi, prinsip kerja hampir sama dengan alat instrumen lainnya, yaitu interaksi antara sampel dan energi, dimana energi berupa sinar yang diteruskan dan dipecah menjadi dua sinar yang saling tegak lurus (Febrinaldo, 2013). Spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75-1,000  $\mu\text{m}$  atau pada bilangan gelombang 13.000-10  $\text{cm}^{-1}$  (Wahab dan Nafie, 2014).



**Gambar 2.3** *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*

Sumber radiasi menyediakan radiasi yang secara langsung melalui sebuah cermin melewati sampel yang akan dianalisis. Tembakan energi didispersi melalui prisma dengan monokromator. Ketika sebuah tembakan yang mengandung radiasi yang diserap sebagian oleh sampel, maka penyerapan diteruskan melalui detektor (Shriner, dkk., 1979).

### ***G. Kanker dan Komponen Senyawa Antikanker***

Kanker memiliki istilah lain yaitu karsinoma, merupakan penyakit yang disebabkan rusaknya mekanisme pengaturan dasar perilaku sel, khususnya mekanisme pertumbuhan dan diferensiasi sel yang diatur oleh gen (Edianto, 2006).

Kanker terjadi karena terdapat sel-sel yang berkembang biak secara tidak terkendali, sehingga merusak bentuk dan fungsi organ tempat kanker tumbuh. Sel-sel kanker bersifat infiltratif dan destruktif yang berarti tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya sambil merusak (Suprpto, 2007).

Kanker dikategorikan sebagai salah satu penyakit mematikan, tetapi dari setiap penyakit pasti ada obatnya sebagaimana hadis Rasulullah saw. Yang diriwayatkan oleh Imam Muslim dalam kitab shahihnya:

عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ  
فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya:

Dari Jabir, bahwa Rasulullah bersabda, “Setiap penyakit ada obatnya, jika benar obat yang digunakan dapat melawan penyakit yang dimaksud, maka dengan izin Allah akan sembuh”. (H.R. Imam Muslim).

Hadis tersebut menggambarkan bahwa setiap penyakit yang diturunkan Allah swt. pasti ada obatnya, artinya bisa bersifat umum, sehingga termaksud di dalamnya penyakit-penyakit mematikan. Allah swt. telah menjadikan untuk penyakit tersebut obat-obatan yang dapat menyembuhkannya. Oleh sebab itu, kesembuhan terhadap penyakit dikaitkan oleh Rasulullah saw. dengan proses kesesuaian obat dengan penyakit yang diobati. Karena setiap penyakit itu pasti terdapat penawarnya. Tetapi jika obat diberikan dengan cara yang salah, misalnya dengan dosis yang berlebih dari stadium penyakitnya dalam pemakaiannya atau kuantitasnya lebih dari yang seharusnya, justru bisa memicu munculnya penyakit lain. Namun bila dosisnya kurang juga tidak bisa mengobati (Ar-Rumaikhon, 2008).

Hadis tersebut dibuktikan melalui beberapa penemuan senyawa antikanker yang berhasil diisolasi dari biota spons telah terbukti menghambat pertumbuhan sel kanker. menurut Muniarsih (2003), berikut adalah senyawa-senyawa antikanker yang ditemukan:

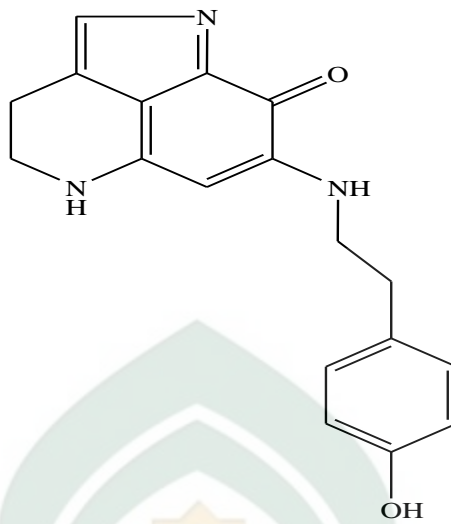
a. *Spongouridin* dan *Spongothymidine* adalah senyawa hasil sintesis yang berasal dari spons *Cryptotetis crypta*. Senyawa ini berupa nukleosida yang bersifat sitotoksik terhadap sel karsinoma selain itu senyawa ini aktif terhadap virus herpes simplex.

b. *Avarol* dan *avaron* merupakan senyawa aktif yang dapat melindungi dari infeksi virus HIV dengan cara menghambat replikasi.

c. *Adociaquinon B* merupakan senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan sel tumor pada manusia yang diisolasi dari spons *Xestospongia sp.*

d. *Bistratamide D* merupakan senyawa aktif yang dapat menghambat sel tumor HCT dan diisolasi dari senyawa *Lissoclinum bistratum*.

e. *Makaluvamine N* merupakan senyawa aktif yang dapat menghambat aktivitas katalitik topoisomerase II yang diisolasi dari *Zyzyafiligiosa* dikumpulkan dari Filipina.



**Gambar 2.4. Struktur Makaluvamine**

### **BAB III**

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-September 2018. Pengambilan sampel di Kepulauan Selayar, identifikasi dilakukan pada Laboratorium Perikanan dan Kelautan Universitas Hasanudin. Ekstraksi, isolasi dan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Riset Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan pengujian bioaktivitas di Laboratorium Kimia Universitas Padjajaran Bandung.

### **B. Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) *Prestige-21 Shimadzu*, *Biosafety Cabinet* (BSC), mikroskop *inverted*, *multimode reader*, *centrifuge*, inkubator CO<sub>2</sub>, oven *Kirin*, lampu UV 254-336 nm, *rotary evaporator Hanshin Scientific co. Model Hs. 2000NS*, neraca analitik, kolom kromatografi cair vakum (KKCV), kolom kromatografi gravitasi (KKG), pompa vakum, *microplate*, adaptor, *hotplate*, kondensor, *steel head*, termometer 110°C, labu alas bulat 1000 mL, erlenmeyer 500 mL, gelas kimia *Pyrex* 500 mL, *chamber*, gelas ukur *Pyrex* 100 ml, gelas kimia *Pyrex* 100 mL, statif, klem, corong, pipet skala 10 mL, pipet skala 5 mL, pipet volume 25 mL, plat tetes, tabung reaksi, pipa kapiler, labu semprot, spatula, batang pengaduk, pipet tetes 3 ml, botol vial, botol reagen dan wadah maserasi.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aluminium foil, aquades ( $\text{H}_2\text{O}$ ), antibiotik, asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) p.a merck, asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 10%, aseton ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ) teknis, batu didih, besi(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 5%, cisplatin ( $\text{cis-PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ ), dimetil sulfoksida (DMSO), es batu, etanol 96% ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) teknis, etil asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ) teknis *Bratachem*, fetal bovine serum (FBS), kain blacu, kertas saring, kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) teknis, plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) TLC Silica gel 60 F<sub>254</sub>, *microtube*, natrium hidroksida (NaOH) 10%, n-Heksan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ) teknis *Bratachem*, pereaksi dragendorff, pereaksi Lieberman Burchard, pereaksi mayer, pereaksi wagner, *phosphate buffered saline* (PBS), *PrestoBlue cell viability reagent*, *Roswell park memorial medium* (RPMI), sel kanker payudara MCF-7, silica G<sub>60</sub> (230-400 mesh) merck no. katalog 7730, silica G<sub>60</sub> (230-400 mesh) merck no. katalog 7733, silica G<sub>60</sub> (230-400 mesh) merck no. katalog 7734, spons *Stylotella* sp., trypan blue, trypsin-EDTA, tube, T-flask, dan 96 well plate.

## C. Prosedur Kerja

### 1. Sampling dan Preparasi Sampel

Sampel diambil dari perairan Kepulauan Selayar dengan kedalaman sekitar 3-10 m karena pertumbuhan dan komunitas dari terumbu karang dan spons adalah optimum pada kedalaman tersebut (Suharyanto, 2008). Sampel diambil langsung dari laut, dibersihkan kemudian disimpan dalam kotak berisi es batu lalu dikeringkan dan diidentifikasi taksonominya di Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Hasanuddin. Sampel yang telah diketahui jenisnya kemudian dipotong-potong kecil kemudian dihaluskan.



## **2. Ekstraksi dan Isolasi**

### **a. Maserasi**

Sampel ditimbang 500 gram dan direndam dengan menggunakan pelarut etil asetat selama 24 jam yang diulangi hingga 3 kali. Kemudian maseratnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary* evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

### **b. Fraksinasi KKCV**

Ekstrak kental etil asetat spons *Stylotella* sp. yang diperoleh diuji KLT kemudian diteruskan dengan kromatografi kolom cair vakum (KKCV) dengan berbagai perbandingan pelarut yang diurut berdasarkan kepolaran mulai dari non polar hingga polar. Fraksi yang diperoleh pada proses KKCV diuji dengan KLT, fraksi yang memiliki tanda-tanda kristal digabung dan dilanjutkan pada pemurnian dengan kromatografi kolom gravitasi dengan perbandingan pelarut yang diurut berdasarkan kepolaran. Dari proses fraksinasi lanjutan melalui kromatografi kolom gravitasi diperoleh fraksi murni yang dilanjutkan ke tahap uji kemurnian, identifikasi dan uji antikanker.

### **c. Pemurnian**

Isolat murni ditandai dengan hasil KLT yang menunjukkan satu noda dengan pengujian minimal tiga sistem eluen yaitu kloroform:etil asetat (9:1), kloroform:aseton (9:1) dan n-heksan:aseton (8:2). Isolat murni yang diperoleh diidentifikasi dengan uji kualitatif dan dilanjutkan dengan karakterisasi menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

### **3. Identifikasi Senyawa**

#### **a. Uji Kualitatif**

##### **1). Uji Flavonoid**

##### **a). Uji dengan asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) p.a**

Sampel diencerkan dengan pelarut organik kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan asam sulfat pekat. Setelah itu, diamati perubahan warna dari kuning tua menjadi merah tua.

##### **b). Uji dengan natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) 10%**

Sampel diencerkan dengan pelarut organik kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan natrium hidroksida 10% . Setelah itu, diamati perubahan warna dari kuning tua menjadi kuning muda.

##### **c). Uji dengan besi(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 5%**

Sampel diencerkan dengan pelarut organik kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan besi(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 5%. Setelah itu, diamati perubahan warna menjadi biru kehitaman.

##### **2). Uji Alkaloid**

##### **a). Uji dengan Pereaksi Meyer**

Sampel diencerkan menggunakan beberapa ml etil asetat kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan pereaksi Meyer. Hasil positifnya yaitu terbentuk endapan putih atau kuning.

##### **b). Uji dengan Pereaksi Wagner**

Sampel diencerkan menggunakan beberapa ml etil asetat kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan pereaksi wagner. Hasil positifnya yaitu terbentuk endapan yang berwarna jingga.

### c). Uji dengan Pereaksi Dragendorff

Sampel diencerkan menggunakan beberapa ml etil asetat kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan pereaksi dragendorff. Hasil positifnya yaitu terbentuk larutan yang berwarna cokelat.

### 3). Uji Terpenoid dan Steroid

Sampel diencerkan dengan pelarut organik kemudian dipipet ke dalam plat tetes dan ditetesi dengan pereaksi Liebermen Burchard dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positifnya yaitu terbentuk larutan berwarna merah atau ungu (terpenoid) dan terbentuk warna biru atau hijau (steroid).

### b. Karakterisasi dengan Spektrofotometer FTIR

Isolat murni sebanyak 1 mg dilarutkan dengan KBr dengan cara digerus sampai homogen. Campuran dimasukkan ke dalam pembuat pellet dengan tekanan 74 atm dan waktu 5 menit sehingga diperoleh pellet dengan ketebalan kurang lebih 1 mm. Plat diletakkan pada wadah plat lalu diukur menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

## 4. Pengujian Antikanker

### a. Preparasi Media

Disiapkan media kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) komplet (yang mengandung *Fetal Bovine Serum* 10% dan 50 µL/ 50 mL antibiotik). Disiapkan kontrol positif yang akan digunakan, kontrol positif yang digunakan dalam uji ini adalah Cisplatin. Dilarutkan sampel dengan konsentrasi akhir tertentu sebagai stock. Digunakan pelarut yang tidak bersifat toksik terhadap sel. Disiapkan Larutan

kerja antiproliferasi assay. Larutan kerja yang akan digunakan adalah *PrestoBlue™ Cell Viability Reagent*.

#### **b. Preparasi Sel**

Sel yang akan digunakan telah konfluen min 70% dibuang media pada dish, lalu bilas sel sebanyak 2x dengan 1 mL PBS. Ditambahkan 1 mL larutan Trypsin-EDTA lalu diinkubasi selama 5 menit agar lapisan sel terdispersi (di bawah mikroskop inverted sel akan tampak melayang. Dipindahkan sel kedalam tube yang telah berisi media. Disentrifuge sel dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Dibuang supernatan, lalu pelet dilarutkan kedalam tube berisi media.

#### **c. Seeding Sel ke dalam 96 well plate**

Ditentukan jumlah dan viabilitas sel (dengan trypan blue exclusion), dan resuspend sel dengan kepadatan sel akhir 170.000 sel / mL dalam media. (17.000 sel/well). Disiapkan 10  $\mu$ L trypan blue dalam *microtube* steril. Ditambahkan 10  $\mu$ L suspensi sel ke dalam larutan trypan blue lalu dihomogenkan. Dibersihkan hemacytometer dan tutup slip menggunakan etanol 70% kemudian dikeringkan. Dengan menggunakan pipet, perlahan lahan dimasukkan 10  $\mu$ L larutan sel-trypan blue ke salah satu sisi bilik/chamber. Dihitung jumlah sel yang sehat dan tentukan jumlah sel (viabel) per mL. *Seeding*/kultur sel kedalam 96 *wellplate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam (atau sampai sel konfluen min. 70%) pada suhu 37°C dan 5% gas CO<sub>2</sub>.

#### **d. Perlakuan sel dengan sampel**

Disiapkan delapan buah *microtube* 1,5 mL, lalu masing-masing *microtube* diberi label konsentrasi pengenceran yang sesuai, kemudian stock sampel diencerkan menjadi delapan varian konsentrasi menggunakan pelarut media. Dikeluarkan 96 *well*

*plate* yang telah berisi sel dari inkubator. Diberi label pada *plate* sepanjang margin kiri untuk baris mana yang akan diberi perlakuan oleh standar dan baris mana yang akan diberi sampel. Lalu dibuang media dari setiap *well*. Dengan menggunakan mikropipet dipindahkan 100  $\mu$ L masing-masing sampel dan kontrol positif cisplatin dari *microtube* ke dalam masing-masing *well* yang sesuai pada 96 *well plate* yang telah berisi sel. Kemudian di inkubasi kembali selama 24 jam.

**e. Pemberian reagen Presto Blue dan Pengukuran absorbansi**

Dibuang Media pada setiap *well*. Disiapkan 9 mL media pada tube yang ditambahkan 1 mL “PrestoBlue™ Cell Viability Reagent” (10  $\mu$ L reagen untuk 90  $\mu$ L media), lalu dimasukkan 100  $\mu$ L campuran larutan tersebut kedalam tiap *well* microplate kemudian diinkubasi selama 1-2 jam sampai terlihat perubahan warna (Saat memasuki sel hidup, reagen *PrestoBlue*® akan direduksi dari senyawa biru resazurin tanpa nilai fluorescent intrinsik, menjadi senyawa resorufin yang berwarna merah dan sangat berpendar. Konversi nilai sebanding dengan jumlah sel yang aktif secara metabolik dan oleh karena itu dapat diukur secara kuantitatif. Untuk mengukur absorbansi, digunakan spektrum absorbansi untuk resazurin dan resorufin) Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm (reference: 600 nm) menggunakan multimode reader.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Ekstraksi

Spons *Stylorella* sp. yang berasal dari Kepulauan Selayar sebanyak 500 gram dimaserasi dengan menggunakan pelarut Etil Asetat selama 24 jam sebanyak tiga kali berturut-turut. Ekstrak kental yang diperoleh berbobot 36,4 gram dan berwarna coklat tua.

##### 2. Fraksinasi

Fraksinasi menggunakan kolom kromatografi cair vakum (KKCV) menghasilkan 17 fraksi.

**Tabel 4.1: Fraksinasi Kromatografi Kolom Cair Vakum (KKCV)**

No.	Perbandingan Eluen	Warna Fraksi
1.	n-heksan 100%	Larutan jingga kecoklatan
2.	n-heksan:etil asetat (9,5:0,5)	Larutan kuning
3.	n-heksan:etil asetat (9,5:0,5)	Larutan kuning
4.	n-heksan:etil asetat (9:1)	Larutan kuning
5.	n-heksan:etil asetat (9:1)	Larutan kuning kehijauan
6.	n-heksan:etil asetat (9:1)	Larutan kuning kehijauan
7.	n-heksan:etil asetat (8:2)	Larutan kuning kehijauan
8.	n-heksan:etil asetat (8:2)	Larutan kuning
9.	n-heksan:etil asetat (8:2)	Larutan kuning
10.	n-heksan:etil asetat (7:3)	Larutan kuning
11.	n-heksan:etil asetat (7:3)	Larutan kuning kecoklatan
12.	n-heksan:etil asetat (6:4)	Larutan kuning kecoklatan
13.	n-heksan:etil asetat (5:5)	Larutan kuning kecoklatan
14.	n-heksan:etil asetat (4:6)	Larutan kuning muda
15.	n-heksan:etil asetat (3:7)	Larutan kuning muda
16.	Etil asetat 100%	Larutan tidak berwarna
17.	Etil asetat 100%	Larutan tidak berwarna

Dari 17 fraksi digabung dan diperoleh 11 fraksi utama. Diantara 11 fraksi, fraksi II yang dimurnikan melalui kromatografi kolom gravitasi dan diperoleh 75

fraksi yang kemudian dilakukan penggabungan kembali berdasarkan hasil noda KLT berikut



**Gambar 4.1: Hasil KLT fraksi pada KKG**

Isolat murni diperoleh dari fraksi no. 6-15 yang berbobot 0,0161 gram. Kemudian dilakukan pengujian kemurnian pada isolat dan diidentifikasi kandungan metabolit sekundernya.

### 3. Pemurnian

Isolat diuji kemurniannya dengan menggunakan 3 sistem eluen yaitu kloroform:etil asetat (9:1), kloroform:aseton (9:1) dan n-heksan:aseton (8:2). Hasil pengujian diperoleh penampakan noda sederhana sebagai berikut



**Gambar 4.2: Hasil KLT uji tiga sistem eluen (a) eluen aseton:n-Heksan (8:2) dengan Rf 0,45 (b) eluen kloroform:etil asetat (9:1) dengan Rf 0,6 (c) eluen kloroform:aseton (9:1) dengan Rf 0,825**



#### 4. Identifikasi

Isolat murni yang diperoleh kemudian diuji kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan fitokimia. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa Spons *Stylotella* sp. positif mengandung senyawa alkaloid seperti pada Tabel berikut:

**Tabel 4.2: Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder Spons *Stylotella* sp.**

Uji Kualitatif		Hasil	
Golongan	Pereaksi	Ekstrak	Isolat Murni
Flavonoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	(-)	(-)
	NaOH 10%	(-)	(-)
	FeCl <sub>3</sub> 5%	(-)	(-)
Alkaloid	Mayer	(+)	(-)
	Dragendorf	(-)	(-)
	Wagner	(+)	(+)
Terpenoid dan Steroid	Lieberman-Burchard	(-)	(-)

#### 5. Karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR

Hasil identifikasi kristal murni pada instrumen FTIR adalah sebagai berikut

**Tabel 4.3: Hasil Serapan Spektroskopi FTIR**

No.	Daerah Serapan Atom (cm <sup>-1</sup> )		Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka	
1.	3425,83	3500-3200	O-H
2.	2930,06	2936-2916	C-H alifatik
3.	2855,41	2863-2843	C-H alifatik
4.	1638,08	1900-1500	C=C alifatik
5.	1381,29	1384-1320	N tersier
6.	1062,84	1250-1020	C-N

(Sumber Daerah serapan atom pada pustaka: Silverstein, Robert M, dkk., 2005)

#### 6. Uji Antikanker terhadap sel Kanker Payudara MCF-7

Kontrol positif yang digunakan adalah Cisplatin dan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari isolat murni yaitu

**Tabel 4.4: Uji Toksisitas Isolat Spons *Stylotella* sp.**

No.	Sampel Uji	Nilai IC <sub>50</sub>	Keterangan
1.	Cisplatin	470,00 µg/mL	Toksik
2.	Isolat murni	14987,50 µg/mL	Tidak toksik

Berikut perubahan warna pada reagen presto blue pada pengujian isolat etil asetat yang menunjukkan reaksi reduksi oleh aktivitas sel.

**Gambar 4.3: Dokumentasi Well Plate Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat**

Absorbansi hasil uji menunjukkan nilai absorbansi yang tidak berbeda secara signifikan dari konsentrasi 7,81 µg/mL hingga konsentrasi 1000,00 µg/mL

**Tabel 4.5: Absorbansi Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat**

Panjang Gelombang /nm	Media	Media +Sel	Cisplatin	DMSO 2,00%	Konsentrasi Sampel (µg/mL)							
					1000,00	500,00	250,00	125,00	62,50	31,25	15,63	7,81
570	0,4149	0,6947	0,6211	0,6795	0,6808	0,6873	0,6828	0,6886	0,6768	0,6837	0,6920	0,6616
	0,4400	0,6904	0,6021	0,6822	0,6849	0,6974	0,6887	0,6834	0,6862	0,6825	0,6821	0,6794
600	0,5118	0,1866	0,3376	0,1878	0,2238	0,1844	0,1921	0,1936	0,1906	0,1967	0,1918	0,1780
	0,5393	0,1913	0,3385	0,1891	0,2082	0,1933	0,1896	0,1888	0,1869	0,1861	0,1850	0,1824
Corrected Absorbance	-0,0981	0,6062	0,3816	0,5899	0,5551	0,6010	0,5889	0,5931	0,5843	0,5851	0,5984	0,5817
		0,5972	0,3617	0,5911	0,5748	0,6022	0,5972	0,5928	0,5974	0,5945	0,5952	0,5952

## **B. Pembahasan**

### **1. Ekstraksi**

Spons dikeringkan secara konvensional dalam suhu ruang tanpa terpapar matahari karena terdapat kemungkinan adanya zat-zat yang terdegradasi atau memberi pengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder. Selain itu, cara pengeringan dengan metode ini merupakan cara yang paling hemat walaupun cenderung lebih lama. Fungsi pengeringan untuk menghilangkan kandungan air agar sampel tidak ditumbuhi jamur yang dapat mempengaruhi kualitas sampel. Setelah itu, sampel diekstraksi menggunakan teknik maserasi berupa perendaman dalam pelarut organik selama 24 jam atau lebih. Teknik ini biasanya digunakan apabila sampel tidak tahan terhadap pemanasan. Selain itu, dalam pengerjaannya tidak ditemui banyak kesulitan, alat-alat yang digunakan juga biasanya tersedia. Proses ini diharapkan pelarut organik dapat menembus dinding sampel dan menarik komponen-komponen sampel. Pelarut organik yang digunakan adalah pelarut etil asetat karena bersifat semipolar sebagaimana penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut semipolar lainnya seperti aseton dalam ekstraksi spons.

Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan evaporator untuk memisahkan antara pelarut dan ekstrak. Pada proses ini terjadi evaporasi dimana pelarut akan menguap pada titik didih masing-masing dan menghasilkan ekstrak kental. Kemudian, ekstrak kental diuji kandungan metabolit sekundernya melalui skrining fitokimia. Hasil pengujian menunjukkan ekstrak Spons *Stylotella* sp. positif alkaloid pada dua reagen uji alkaloid, yaitu pada reagen meyer dengan adanya endapan kuning muda dan pada reagen wagner dengan adanya endapan jingga kecoklatan.

## 2. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan komponen-komponen ekstrak menjadi fraksi-fraksi dengan kandungan yang lebih sederhana yang telah terpisah berdasarkan urutan kepolaran, dimana sampel dielusi dengan pelarut dengan berbagai perbandingan yang ditingkatkan kepolarannya.

Prinsip pemisahan berdasarkan interaksi antara fase diam berupa silika G<sub>60</sub> Merck nomor katalog 7730 dan fase gerak berupa eluen yang berturut-turut terdiri dari n-heksan 100%, 9,5:0,5 (n-heksan:etil asetat) 2 kali, 9:1 (n-heksan:etil asetat) 3 kali, 8:2 (n-heksan:etil asetat) 3 kali, 7:3 (n-heksan:etil asetat) 2 kali, 6:4 (n-heksan:etil asetat), 5:5 (n-heksan: etil asetat), 4:6 (n-heksan:etil asetat), 3:7 (n-heksan:etil asetat). Pada proses *packing* silika dilakukan dalam keadaan vakum agar tidak ada ruang udara sehingga tidak mengganggu proses pemisahan fraksi. Selain digunakan silika G<sub>60</sub> Merck nomor katalog 7730 untuk proses *packing*, digunakan juga silika G<sub>60</sub> Merck nomor katalog 7733 pada proses *impreg* yaitu pencampuran antara silika dengan sampel agar pemisahan lebih maksimal.

Fraksi pertama yang dielusi menggunakan 100% n-heksan berwarna jingga dan wujud fraksi setelah diuapkan menunjukkan komponen lemak yang berhasil ditarik oleh pelarut n-heksan, sebagaimana diketahui lemak dan n-heksan bersifat nonpolar. Sedangkan fraksi terakhir yaitu fraksi ke-17 yang dielusi dengan pelarut etil asetat tidak berwarna, hal ini menunjukkan sisa komponen lain telah ditarik oleh eluen sebelumnya.

Fraksi yang diperoleh kemudian digabung setelah diuji dengan kromatografi lapis tipis, profil noda dengan penampakan yang sama digabung sehingga diperoleh 11 fraksi. Fraksi A terdiri dari fraksi pertama dengan eluen 100% n-heksan, fraksi B

terdiri dari fraksi 2, 3 dan 4 dengan eluen berturut-turut 9,5: 0,5 sebanyak 2 kali dan 9:1 (n-heksan:etil asetat), fraksi C dari fraksi 5 dengan eluen 9:1, fraksi D terdiri dari fraksi 6, 7, 8 dan 9 yang berasal dari eluen 9:1 dan 8:2 sebanyak 3 kali, fraksi E dari fraksi 10 dengan eluen 7:3, fraksi F terdiri dari fraksi 11 dan 12 dengan eluen 7:3 dan 6:4, fraksi G sampai K merupakan fraksi 13 sampai 17 berturut-turut.

Penggabungan fraksi dilakukan setelah dilihat penampakan noda masing-masing dalam uji menggunakan kromatografi lapis tipis, sehingga diperoleh 11 fraksi. Fraksi gabungan diuji kembali menggunakan kromatografi lapis tipis, sehingga diketahui fraksi yang dilanjutkan untuk pemisahan selanjutnya yaitu fraksi B yang merupakan gabungan dari fraksi no. 2, 3 dan 4 karena profil noda tampak sederhana dan wujud fisik fraksi memiliki peluang dihasilkannya kristal. Setelah bobot fraksi B diketahui yaitu 0,2 gram, dilakukan pemisahan selanjutnya dengan kromatografi kolom gravitasi dengan berbagai perbandingan eluen yang ditingkatkan kepolarannya dan diperoleh 75 fraksi, selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)

Fraksinasi lanjutan menggunakan kromatografi kolom gravitasi, prinsip pemisahan sama dengan kromatografi sebelumnya yaitu interaksi fase diam dan fase gerak, silika yang digunakan sebagai fase diam adalah silika G<sub>60</sub> Merck nomor katalog 7734 sedangkan silika yang digunakan untuk impregnasi ekstrak yaitu silika G<sub>60</sub> Merck nomor katalog 7733. Fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan 100%, n-heksan:etil asetat (9,5:0,5), n-heksan:etil asetat (9:1), n-heksan:etil asetat (8:2) dan n-heksan:etil asetat (7:3).

Hasil yang diperoleh dari fraksinasi lanjutan yaitu sebanyak 75 fraksi. 75 fraksi diuji dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Berdasarkan hasil uji dapat

diketahui fraksi yang memiliki noda dan  $R_f$  yang sama sehingga dilakukan penggabungan terhadap fraksi 6-15 sebagaimana yang terdapat pada gambar 4.1. diperoleh kristal berwarna putih kekuningan yang berbobot 0,0161 gram.

### 3. Pemurnian

Uji kemurnian dilakukan untuk mengetahui tingkat kemurnian dari suatu isolat dengan cara dielusi menggunakan beberapa campuran eluen yang memiliki tingkat kepolaran berbeda-beda, sehingga noda dapat terpisah dan memiliki nilai  $R_f$  (faktor retensi) yang berbeda-beda tergantung tingkat kepolaran suatu zat terhadap setiap eluen. Kepolaran eluen mempengaruhi nilai  $R_f$  pada suatu zat, sebagaimana yang terdapat pada gambar 4.2, dari kiri ke kanan nilai  $R_f$  semakin besar, seperti tingkat kepolaran eluen yang dari kiri ke kanan semakin polar.

Noda yang tampak pada proses pemurnian uji sistem tiga eluen menunjukkan satu noda tunggal dengan nilai  $R_f$  masing-masing 0,45; 0,6 dan 0,825, tanpa adanya pengotor karena hanya terdiri dari satu spot noda tanpa adanya spot lain sebagai pengotor yang terpisah sebagaimana yang terdapat pada gambar. Hal tersebut menandakan kristal telah murni yang diperkirakan sebagai komponen alkaloid, kemungkinan tersebut diperkuat dengan hasil positif pada skrining fitokimia dan uji gugus fungsi menggunakan FTIR.

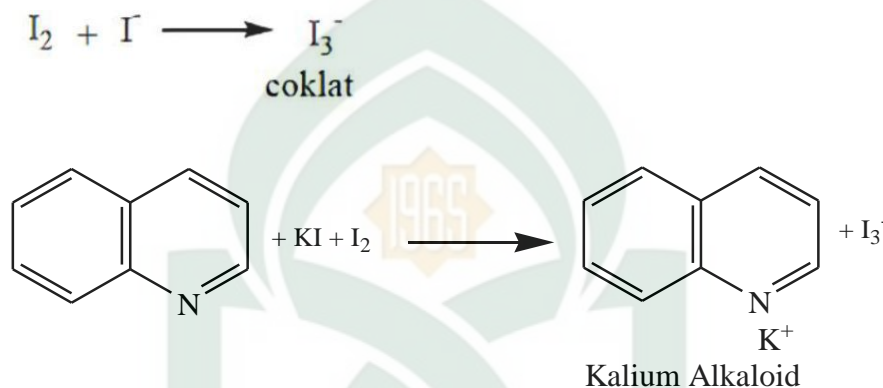
### 4. Identifikasi

Isolat dari ekstrak etil asetat Spons *Stylotella* sp. positif mengandung alkaloid yang ditunjukkan pada pembentukan endapan jingga kecoklatan dengan reagen wagner. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan



pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I dari kalium iodida menghasilkan ion  $I_3^-$  yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam  $K^+$  akan

membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap (Setyowati, dkk., 2014). Reaksinya adalah sebagai berikut

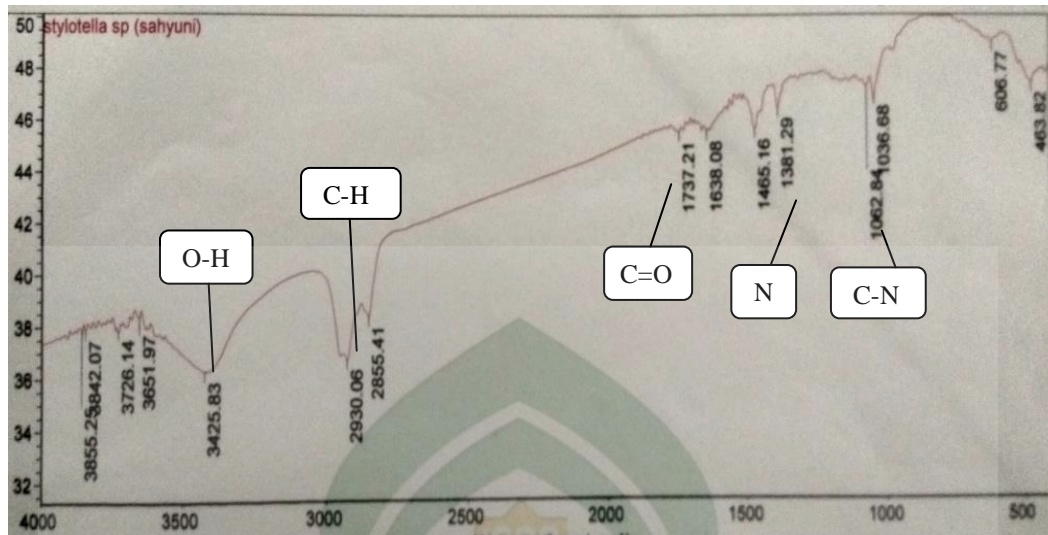


Gambar 4.4: Reaksi alkaloid dengan reagen wagner

## 5. Karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR

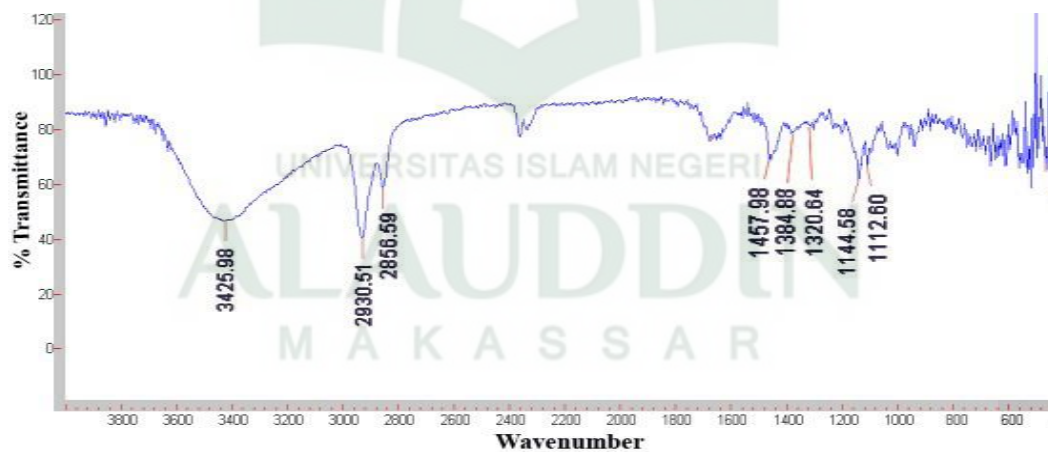
Identifikasi terhadap gugus fungsi isolat ekstrak etil asetat Spons *Stylorella* sp. menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Hasil uji menunjukkan beberapa serapan-serapan khas untuk beberapa gugus fungsi. Serapan pada  $3425,83\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya serapan melebar sebagai vibrasi regangan dari gugus O-H (hidroksil). Serapan pada  $2930,06\text{--}2855,41\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan vibrasi regangan terhadap gugus C-H alifatik (alkana). Serapan yang tajam dan kuat yaitu pada  $1062,84\text{ cm}^{-1}$  memberi petunjuk adanya gugus C-N (nitril) sehingga berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan sebagai senyawa alkaloid.





Gambar 4.5: Spektrum Serapan Spektroskopi FTIR Isolat ekstrak etil asetat *Spons Stylotella sp.*

Berikut adalah hasil penelitian karakterisasi senyawa alkaloid metabolit sekunder dari *Spons Xestospongia sp.* yang diperoleh dari perairan Teluk Kupang. Hasil spektrum penelitian tersebut dapat dijadikan perbandingan .



Gambar 4.6: Spektrum Serapan Spektroskopi FTIR Isolat *Spons Xestospongia sp.*

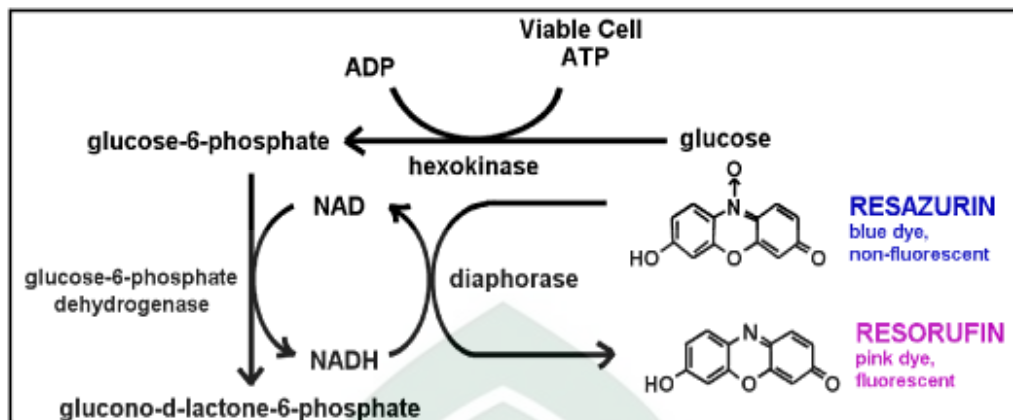
Interpretasi data sektrum FTIR menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki gugus hidroksi dengan adanya vibrasi ulur O-H yang melebar pada daerah sekitar

3425  $\text{cm}^{-1}$  dan vibrasi ulur C-O pada daerah sidik jari yang muncul pada daerah serapan sekitar 1144  $\text{cm}^{-1}$ . Senyawa tersebut juga memiliki gugus alkil rantai panjang yang ditunjukkan dengan adanya vibrasi ulur C-H pada daerah sekitar 2930  $\text{cm}^{-1}$ , sedangkan vibrasi ulur C-H pada daerah sekitar 2856  $\text{cm}^{-1}$  dan vibrasi tekuk C-H pada daerah sekitar 1457  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya gugus gugus metil. Analisis lebih lanjut pada daerah sidik jari memberikan informasi karakterisasi spesifik senyawa alkaloid dimana terlihat adanya vibrasi tarik N tersier pada daerah sekitar 1384  $\text{cm}^{-1}$  dan 1320  $\text{cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya gugus amina siklik dari senyawa alkaloid (Setyono, dkk., 2012). Hasil spektrum serapan spektroskopi FTIR kedua isolat diduga sebagai senyawa alkaloid karena memiliki beberapa daerah serapan yang khas.

#### **6. Uji Antikanker terhadap sel Kanker Payudara MCF7**

Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan untuk mengetahui nilai  $\text{IC}_{50}$  dari suatu sampel serta pengaruhnya terhadap aktivitas sel dan perbanyakan sel. Pengujian sitotoksik dilakukan dalam beberapa metode, pengujian ini menggunakan metode kolorimetrik atau perubahan warna karena adanya reaksi reduksi oksidasi, dimana resazurin sebagai indikator berwarna biru direduksi menjadi resorufin berwarna merah muda, perubahan warna mengindikasikan aktivitas sel.

Sel yang masih aktif membelah melakukan kegiatan metabolik, sehingga menghasilkan enzim-enzim yang berasal dari organel sel mitokondria menyebabkan reduksi pada resazurin misalnya *dihydrolipoamine dehydrogenase* (Matsumoto, dkk., 1990). Reaksi sebagaimana yang terdapat pada gambar berikut.



Gambar 4.7: Mekanisme reduksi resazurin pada sel  
(Sumber: Syahputra, 2015)

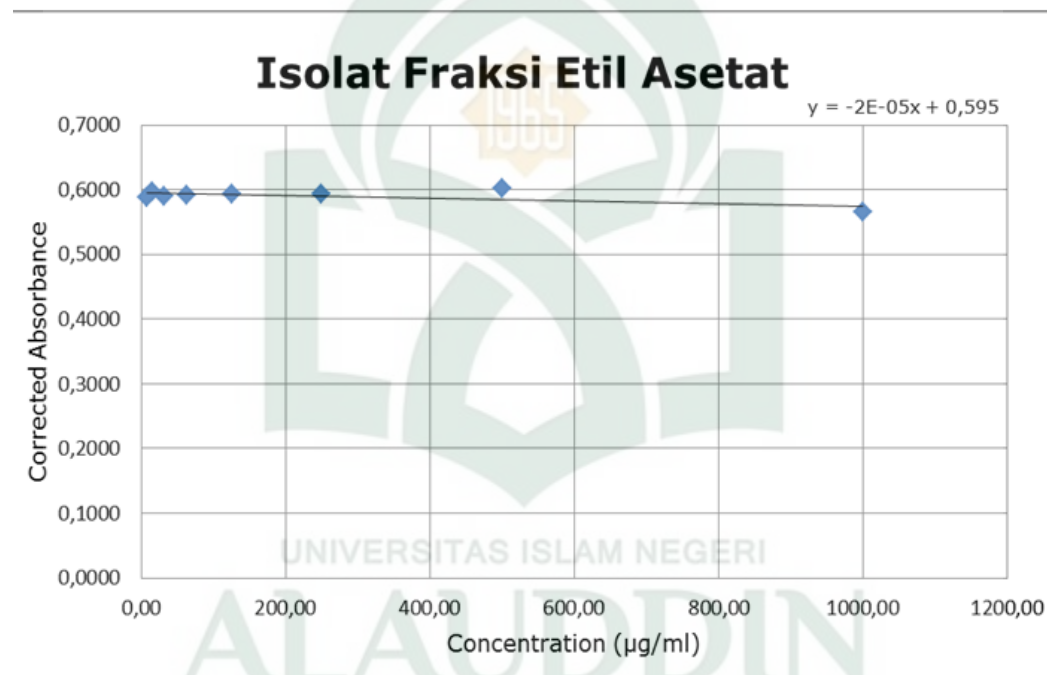
Resazurin yang digunakan merupakan reagen presto blue yang ditambahkan pada sel dan hasil akhir berupa pengukuran absorbansi menggunakan multimode reader. Pengujian ini menggunakan larutan Dimetil Sulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif dan sebagai pelarut sampel karena dapat larut dengan baik dalam berbagai pelarut organik, yang bersifat polar maupun nonpolar sehingga dapat meningkatkan kelarutan sampel. Adapun cisplatin sebagai kontrol positif yang merupakan zat murni agen antikanker dan biasanya digunakan sebagai pembanding..

Pengujian menggunakan media kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) komplet (yang mengandung Fetal Bovine Serum (FBS) 10% dan 50  $\mu\text{L}$ / 50mL antibiotik). Menurut Freshney (2010) FBS berfungsi sebagai nutrisi untuk kelangsungan sel karena mengandung sumber lipid, mineral dan hormon. Larutan kerja yang digunakan adalah PrestoBlue™ Cell Viability Reagent.

Isolat dibuat menjadi delapan varian konsentrasi untuk melihat hubungan pola konsentrasi dengan aktivitas sel. Setiap konsentrasi pada pengenceran dapat mewakili masing-masing kategori parameter konsentrasi toksik yaitu konsentrasi 1000,00  $\mu\text{g/mL}$  dan 500,00  $\mu\text{g/mL}$  untuk kategori kurang toksik, konsentrasi 250,00  $\mu\text{g/mL}$ ,

125,00  $\mu\text{g/mL}$  dan 62,50  $\mu\text{g/mL}$  untuk kategori toksik moderat. Sedangkan untuk kategori sangat toksik yaitu pada konsentrasi 31,25  $\mu\text{g/mL}$ , 15,63  $\mu\text{g/mL}$  dan 7,81  $\mu\text{g/mL}$ .

Adapun kurva hasil uji berdasarkan hubungan nilai absorbansi dan konsentrasi. Nilai  $\text{IC}_{50}$  diperoleh dari persamaan regresi linier  $y = ax + b$ , yaitu nilai  $x$  merupakan angka probit hasil dari perhitungan sedangkan nilai  $y$  adalah log konsentrasi sebesar 50 yang dapat memberikan nilai  $x$



**Gambar 4.8: Kurva Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat**

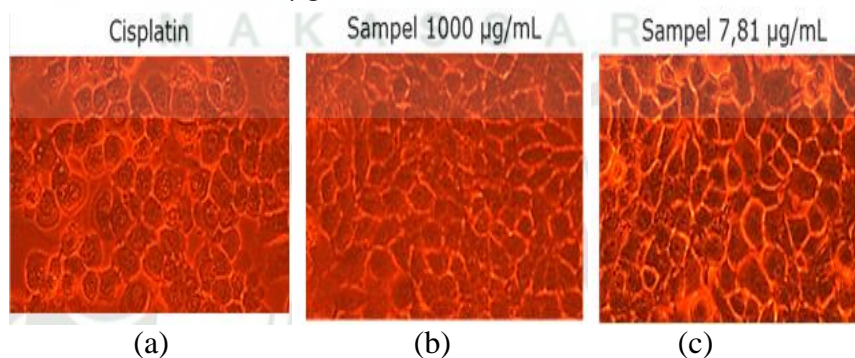
Diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  isolat ekstrak etil asetat spons *Stylorella* sp. sebesar 14987,50  $\mu\text{g/mL}$  yang berarti tidak toksik, karena menurut Prayong, dkk., (2008) aktivitas sitotoksik dikategorikan menjadi tiga bergantung nilai  $\text{IC}_{50}$  yaitu  $\text{IC}_{50} < 100$   $\mu\text{g/mL}$  termasuk sitotoksik potensial,  $100$   $\mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 1000$   $\mu\text{g/mL}$  termasuk sitotoksik moderat dan  $\text{IC}_{50} > 1000$   $\mu\text{g/mL}$  berarti tidak memiliki sitotoksik untuk menghambat sel kanker. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.3, pada *well plate*

terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang berarti reaksi reduksi senyawa resazurin menjadi resorufin. Hal tersebut menandakan sel masih melakukan aktivitas metabolik sehingga menghasilkan enzim-enzim pereduksi.

Sel kanker payudara yang digunakan adalah sel MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*) yang berasal dari jaringan payudara seorang wanita yang berusia 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel yang melekat dan dapat ditumbuhkan dalam media, sel MCF-7 telah dilaporkan memiliki karakteristik yang resisten terhadap agen kemoterapi (CCRC, 2008).

Senyawa cis-Diammineplatinum (II) dichloride (Cisplatin) biasanya digunakan dalam konsentrasi kecil sebagai standar dalam pengujian sitotoksik seperti pada penelitian antiproliferasi terhadap sel kanker payudara T47D dengan penggunaan cisplatin sebagai kontrol positif dalam konsentrasi 0,43  $\mu\text{g/mL}$  (Subekti dan Muhartono, 2015) dan digunakan sebagai kontrol positif dengan berbagai konsentrasi (1-10  $\mu\text{g/mL}$ ) pada penelitian sebagai agen kemoterapi kanker paru pada sel kanker A549 (Ihsan, dkk., 2013).

Berdasarkan Gambar 4.5, terdapat perbedaan penampakan sel yang diberi cisplatin sebagai kontrol positif, sampel dalam konsentrasi 1000,00  $\mu\text{g/mL}$  dan sampel dalam konsentrasi 7,81  $\mu\text{g/mL}$



**Gambar 4.9: Dokumentasi Sel Hasil Uji**



Isolat ekstrak etil asetat Spons *Stylotella* sp. tidak toksik terhadap sel MCF-7 karena nilai  $IC_{50}$  tidak termasuk dalam kategori toksik, walaupun demikian penambahan konsentrasi sampel memberikan pengaruh, dari Gambar 4.9 terdapat perbedaan penampakan antara sel yang diberi sampel dalam konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$  dan dalam konsentrasi 7,81  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan sel yang diberi Cisplatin menunjukkan tanda-tanda pengurangan jumlah sel.

Pengurangan jumlah sel dapat menjadi indikasi terjadinya apoptosis, menurut CCRC (2008), sel yang mengalami apoptosis dapat diamati dengan menggunakan mikroskop elektron melalui ciri-ciri morfologis yang ditampakkan. Ciri-ciri tersebut antara lain sel menjadi bulat karena struktur protein yang menyusun sitoskeleton dicerna oleh enzim peptidase spesifik yang telah diaktifkan di dalam sel. Kromatin mulai mengalami degradasi dan kondensasi, kromatin mengalami kondensasi lebih lanjut, menjadi semakin memadat. Pada tahap ini membran yang mengelilingi inti sel masih tampak utuh, lingkungan dalam inti sel tampak terputus dan DNA di dalamnya terfragmentasi, inti sel pecah melepaskan berbagai bentuk kromatin atau unit nukleosom karena disebabkan degradasi DNA.

Apoptosis menunjukkan kematian sel yang diawali dengan terbentuknya lekukan-lekukan pada membran sel dan DNA terfragmentasi (Goodlet, dkk., 2005). Menurut Ren, dkk. (2003) suatu senyawa bersifat toksik apabila menunjukkan efek antiproliferasi, penghambatan siklus sel, inhibisi angiogenesis, merusak sel secara langsung (nekrosis) dan induksi apoptosis.

Menurut Thurston (2007), alkaloid dapat menjadi agen antikanker sebagai antitubulin, alkaloid dapat mengikat protein mikrotubulus pada pembentukan spindle, sehingga menghambat siklus pembelahan sel, tepatnya pada tahap metafase.

Mikrotubulus merupakan polimer dari tubulin yang keberadaannya penting pada pembelahan sel. Sel yang tidak dapat melakukan pembelahan maka dapat mengalami apoptosis (Bertomi, 2011).





## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak etil asetat Spons *Stylotella* sp. adalah senyawa alkaloid.
2. Nilai  $IC_{50}$  isolat ekstrak etil asetat Spons *Stylotella* sp. adalah 14978,50  $\mu\text{g/mL}$ .

#### **B. Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan penentuan struktur menggunakan NMR.

## DAFTAR PUSTAKA

Al-Qur'an al-Karim

- Abubakar, Hermawaty, dkk. "Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba". *Ilmu Kelautan* 16, no. 1 (2011): h 35-40.
- Ackers, R. Graham and Moss, D. "Sponges of The British Isles". *Marine Conversation Society* 2, no. 3 (2007): h. 67-75.
- Aminah, Ibtisamatul, dkk. "Karakterisasi Metabolit Sekunder Ekstrak Diklorometana dari Spons *Petrosia alfiani* Sebagai Antioksidan". *Ilmiah Kimia Organik*.
- Amir, Ichsan dan Agus Budiyo. "Mengenal Spons Laut (Demospongiae) Secara Umum". *Oseana* 21, no. 2 (1996): h. 15-31.
- Ar- Rumaikhon, Sulaiman bin A., *Fiqh pengobatan Islam: Kajian komprehensif Seputar Berbagai Aspek Pengobatan dalam Perspektif Islam*. Penerjemah. Tim Al-Qowam. Solo: Al-Qowam, 2008.
- Asaf, Ruzkiah, dkk. "Variasi Aktivitas Kandungan Metabolit Sekunder Spons Berdasarkan Kondisi Habitat". *Prosiding Indoaqua*. Universitas Hasanuddin, 2012.
- Asro, Muhammad dkk. "Pertumbuhan Spons (*Stylotella aurantium*) yang Ditransplantasi pada Berbagai Kedalaman". *Mina Laut Indonesia* 1, no. 1 (2013): h. 133-144.
- Astuti, Rosiana Widi. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Daun Kepel". *Skripsi*, 2007..
- Atun, Sri. "Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam". *Konservasi Cagar Budaya Borobudur* 8, no. 2 (2014): h. 53-61.
- Bergquist, P.R. *Sponges*. London: Hutchinson, 1978.

- Bertomi R. P. “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxiae cortex*) dengan Metode Brine Shrimp Lehtality Test (BSLT)”. *Skripsi Sarjana*, Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. (2011).
- Brennan, Mary R. dkk. “Stylopeptide 2, a-Proline-Rich Cyclodecapeptide from the Sponge *Stylorella* sp.”. *Journal of Natural Products* 71, no. 3 (2008): h. 453-456.
- Cancer Chemoprevention Research Center. *Protokol in vitro CCRC*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM. (2008): h. 1-12.
- Chumko Seok dkk. “Purification and Molecular Docking Study of Angiotensin 1-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides from Hydrolysates of Marine Sponge *Stylorella Aurantium*”. *Process Biochemistry*, no. 8 (2016): h. 1-8.
- Edianto, Deri. *Kanker Serviks: Buku Acuan Nasional Onkologi Ginekologi*. Edisi Pertama, Cetakan Pertama. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawihardjo, 2006.
- Erpenbeck, D.J.G. *On the Phylogeny of Halichondrid Demosponges*. Digital Academic Repository. Amsterdam: Universiteit van Amsterdam, 2004.
- Faizal, Muhammad Reza dkk. “Potensi Senyawa Bioaktif Ekstrak Kasar Bakteri *Symbion Spons* sebagai Anthelmintika : Sebuah Uji Pendahuluan”. *Omni Akuatika* 13, no .19 (2014): h. 77 – 84.
- Faturso E., dkk. *Hand Book of Marine Natural Products*. Vol. 1. Springer, 2012.
- Febrinaldo. “Spektrofotometer Fourier Transform Infra Red (FTIR)”. *Kimia* 1, no. 1 (2013): h. 7-8.
- Firman Syah. Selayar dan Pergerakan A. G. H. Hayyung (*Pemberontakan Terhadap Kungkungan Budaya dan Penjajahan*) (Selayar: Pemda Kabupaten Kepulauan Selayar Bekerja Sama dengan LP2MT, 2010), h. 1.
- Goodlett, dkk. “Alcohol Teratogenesis: Mechanisms of Damage and Strategies for Intervention”. *Experimental Biology and Medicine* 12 no. 230 (2005): h. 394–406.

- Haedar dkk. "Potensi Keanekaragaman Jenis dan Sebaran Spons di Perairan Pulau Saponda Laut Kabupaten Konawe". *Sapa Laut* 1, no. 1 (2016): h. 1-9.
- Haeria. *Kimia Produk Alam*. Makassar: Alauddin University Press, 2014.
- Hamka. *Tafsir Al-Azhar* Jus 7. Jakarta: Pustaka Panjimas, 1983.
- Handayani, Dian, dkk. "Isolasi Senyawa Antimikroba dari Spon Laut *Pseudoceratina purpurea* Carter". *Sains dan Teknologi Farmasi* 15, no. 1 (2010): h. 58-66.
- Handayani, Dian, dkk. "Isolasi Senyawa Sitotoksik dari Spons Laut *Petrosia* sp.". *Jurnal JPB Perikanan* 7, No. 1 (2012): 69-76.
- Harborne, J.B dan B. L. Turner. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB, 1987.
- Harrison, F.W. and De Vos, L. "Porifera: Microscopic Anatomy of Invertebrates)". *Oceanology Singapore* 2, no. 3 (2000): h. 28-89.
- Herdhiansyah, Ridho dkk. "Senyawa Lipid Spons *Haliclona cymaeformis* sebagai Biomarka dan Aktivitasnya terhadap Mikroba". *Sains Dan Seni ITS* 4, no.2, (2015): h. 2337-3520.
- Hooper, J.N.A and Soest, R.W.M.V. "Systema Porifera a Guide to the Classification of Sponges". *Journal Bio. Universitas Genova*, no. 68 (2002): h.19-38.
- Ihsan, Fariz, dkk. "Ekstrak Purwaceng (*Pimpinella Alpinna*) sebagai Agen Kemopreventif dan Kemoterapi Kanker Paru (Kajian Antiproliferatif serta Uji Apoptosis melalui jalur p53,BCL-2,RB dan CASPASE-9). (2013).
- Ilyas, Asriany. *Kimia Organik Bahan Alam*. Makassar: Alauddin Press, 2013.
- Kato, Taketoshi, dkk. "Styloguanidies, New Chitinase Inhibitors from the Marine Sponge *Stylotella aurantium*". *Tetrahedron* 36, no. 12 (1995): h. 2133-2136.
- Kemetrian Agama RI, *Mushaf Alquran dan Terjemah Al Rasyid*. Jakarta: Fajar Mulya, 2010.

- Kinnel, Robin B. dkk. "Palauamine and its Congeners: A Family of Bioactive Bisguanidines from the Marine Sponge *Stylotella aurantium*". *Chemistry* 63, no. 10 (1998): h. 3281-3286.
- Kristianingrum, Susila. "Spektroskopi Infra Merah". (2010).
- Lenny, Sovia. "Senyawa Terpenoida dan Steroida". *Karya Ilmiah*, 2006.
- Lytle, Charles F and John R. Meyer. *General Zoology Laboratory Guide Fourteenth Edition*. New York: Mc Graw Hill, 2005.
- Mahmud, Mahir Hasan. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta: Qultummedia, 2007.
- Matsumoto, dkk. "Fluorometric determination of carnitine in serum with immobilized carnitine dehydrogenase and diaphorase". *Clin. Chem.* no. 36 (1990): h. 2072-2076.
- Mosmann, T. "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays". *Immunological Method* 16, no. 65 (1983): h. 55-63.
- Murniasih, Tutik. "Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Bahan Obat-Obatan". *Oseana* 28, no. 3 (2003): h. 27-33.
- Musman, Musri dkk. "New Sesquiterpene Carbonimidic Dichlorides and Related Compounds from the Sponge *Stylotella aurantium*". *Natural Products* 64, no. 1 (2001): h. 111-113.
- Nybakken, J.W. *Biologi Laut: Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT. Gramedia, 1993.
- Pais, Mary dkk. "Styloelline, A New Sesquiterpen Isocyanide from the Sponge *Stylotella* sp. Application of 2D-NMR in Structure Determination". *Tetrahedron Letters* 28, no. 13 (1987): h. 1409-1412.
- Pettit, George R. dkk. "Isolation and Structure of Stylostatin 1 from the Papua New Guinea marine Sponge *Stylotella Aurantium*". *Organic Chemistry* 57, no. 26 (1992): h. 7217-7220.
- Pratiwi, Rianti. "Biota Laut: Bagaimana Mengenal Biota Laut?". *Oseana* 31, no. 1 (2006): h. 27-38.
- Prayong P., dkk. "Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants". *Fitoterapia* 79, no. 7 (2008): h. 598-601.

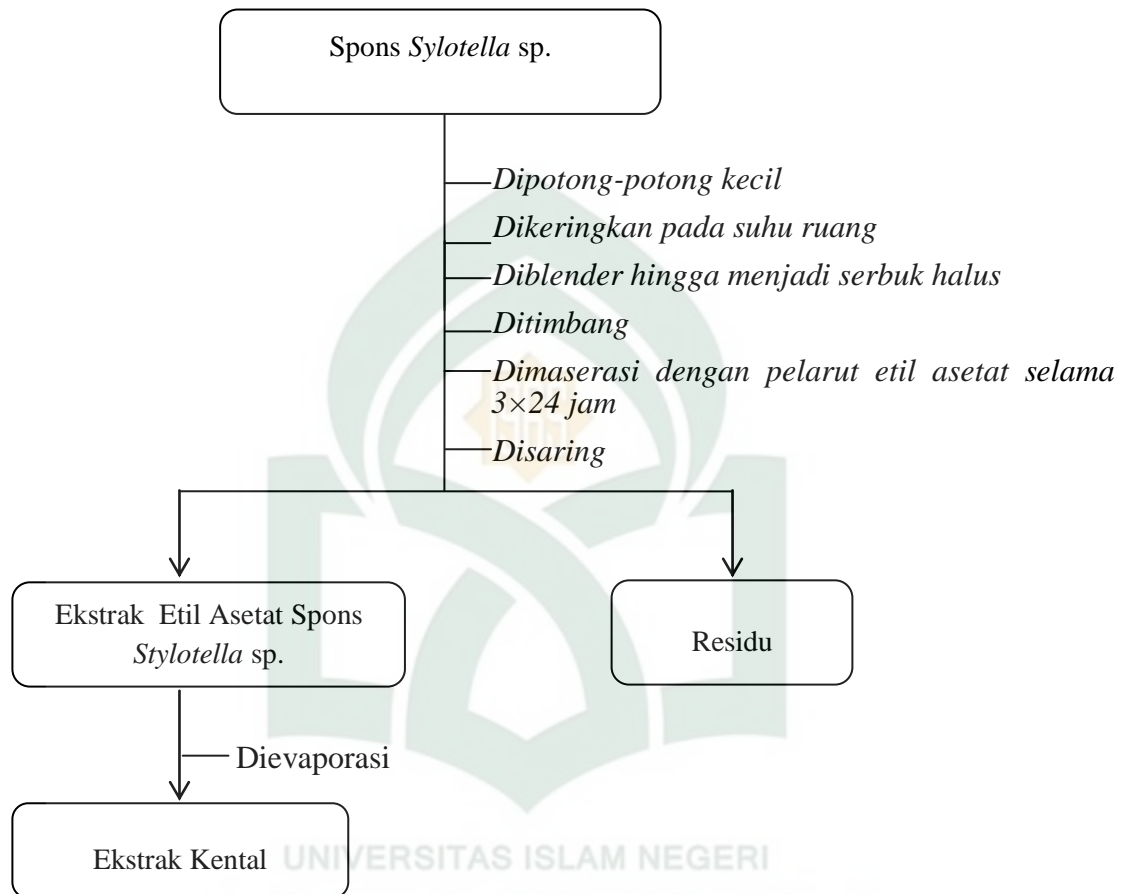
- Raharjo, Tri Joko. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2013.
- Rahmat, R. "Spons Indonesia Kawasan Timur: Keragaman, Distribusi, Kelimpahan dan Kandungan Metabolit Sekundernya". *Jurnal Oseanologi dan Limnologi Indonesia*, no. 33 (2007): h. 123-138.
- Ren, dkk. "Flavonoids: Promising Anticancer Agents". *Medicinal research Reviews* 23, no. 4 (2003): h. 519-534.
- Romimohtarto, K. dan Juwana S. "Biologi Laut: Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut". Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi LIPI. Jakarta, 1999.
- Setyono, Eko, dkk. "Karakterisasi Senyawa Alkaloid Metabolit Sekunder dari *Spongia Xestospongia Sp.*". Prosiding SNSMAIP III-2012. Universitas Lampung.
- Setyowati, Erna Prawita. dkk. "Isolasi senyawa sitotoksik spons Kaliapis". *Majalah Farmasi Indonesia* 18, No. 4 (2007): h. 183 – 189.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al quran*. vol 7 dan 12. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Shriner, Ralph L dkk. *The Systematic Identification of Organic Compounds a laboratory manual 6<sup>th</sup>. ed.* New York: Braun Brumfield, 1979.
- Siahaya, A.N. dkk. "Analisa beberapa Logam Berat pada Spons (Porifera) di Perairan Teluk Ambon".
- Sijabat, Lanceria. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sponge Haliclona sp terhadap Aktivitas Proliferasi Sel dengan Metode Hitung AgNOR pada Sel Adenocarcinoma Mammae Mencit C3H. *Skripsi*, Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, 2009.
- Simpson, Jamie S. dkk. "Biosynthesis of Dicloroimines in the Tropical Marine Sponge *Stylotella Aurantium*". *Tetrahedron L.* 38, no. 45 (1997): h. 7947-7950.
- Sipkema, Detmer dkk. "Biological Characterisation of Haliclona (gellius) sp.: Sponge and Associated Microorganisms". *Microb Ecol* 58, no. 10 (2009): h. 903-920.



- Sotheeswaron, Subramaniam. "Natural Products from some South Pacific Marine Organisms". *Internasional Symposium: Natural Products*. Sri Lanka (2011).
- Subekti dan Muhartono. " Senyawa Brucein-A dari Buah Makassar (*Brucea javanica* (L.) Merr.) sebagai Antiproliferasi terhadap Sel Kanker Payudara T47D". *MKB* 47, no. 1 (2015): h. 22-28
- Sumaryono, Wahono dkk. "Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Utama dari Sponge *Axynissa aplysinoides*". *Majalah Farmasi Indonesia* 16, no. 4 (2005): h. 186-191.
- Suparno. *Kajian Bioaktif Spons Laut (Porifera: Demospongiae) Suatu Peluang Alternatif Pemanfaatan Ekosistem Karang Indonesia dalam Bidang Farmasi*. Makalah Pribadi Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor, 2005.
- Suprpto, Juliani L. *160 Jus Buah dan Sayur Diet Sehat Golongan Darah untuk Mencegah dan Mengobati Kanker*. Jakarta: PT. Bhuana Ilmu Populer, 2007.
- Suryati E, Parenerengi A, dan Rosmiati. "Penapisan serta Analisis Kandungan Bioaktif Sponge *Clathria* sp. yang Efektif sebagai Antibiofouling pada teritif (*Balanus amphitrite*)". *Penelitian Perikanan Indonesia* 5, no. 3 (1999).
- Suwignyo, Sugiarti dkk. *Avertebrata Air Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya, 2005.
- Tabudravu, Jioji dkk. "Wainunamide, a histidine-containing proline-rich cyclic heptapeptide isolated from the Fijian marine sponge *Stylotella aurantium*". *Tetrahedron Letters* 42 (2001): h. 9273-9276.
- Thurston, D.E. *Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs*. Danvers: CRC Press, 2007.
- Tukiran, dkk. "Skrining Fitokimia pada beberapa Ekstrak dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinesis* L.) dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.)". *Prosiding Seminar Nasional Kimia* (2014): h. 235-244.
- Wewengkang, Defny, S. dkk. "Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *Haliclona* Sp. dari Teluk Manado". *LPPM Bidang Sains dan Teknologi* 1, no. 1 (2014): h. 71-85.

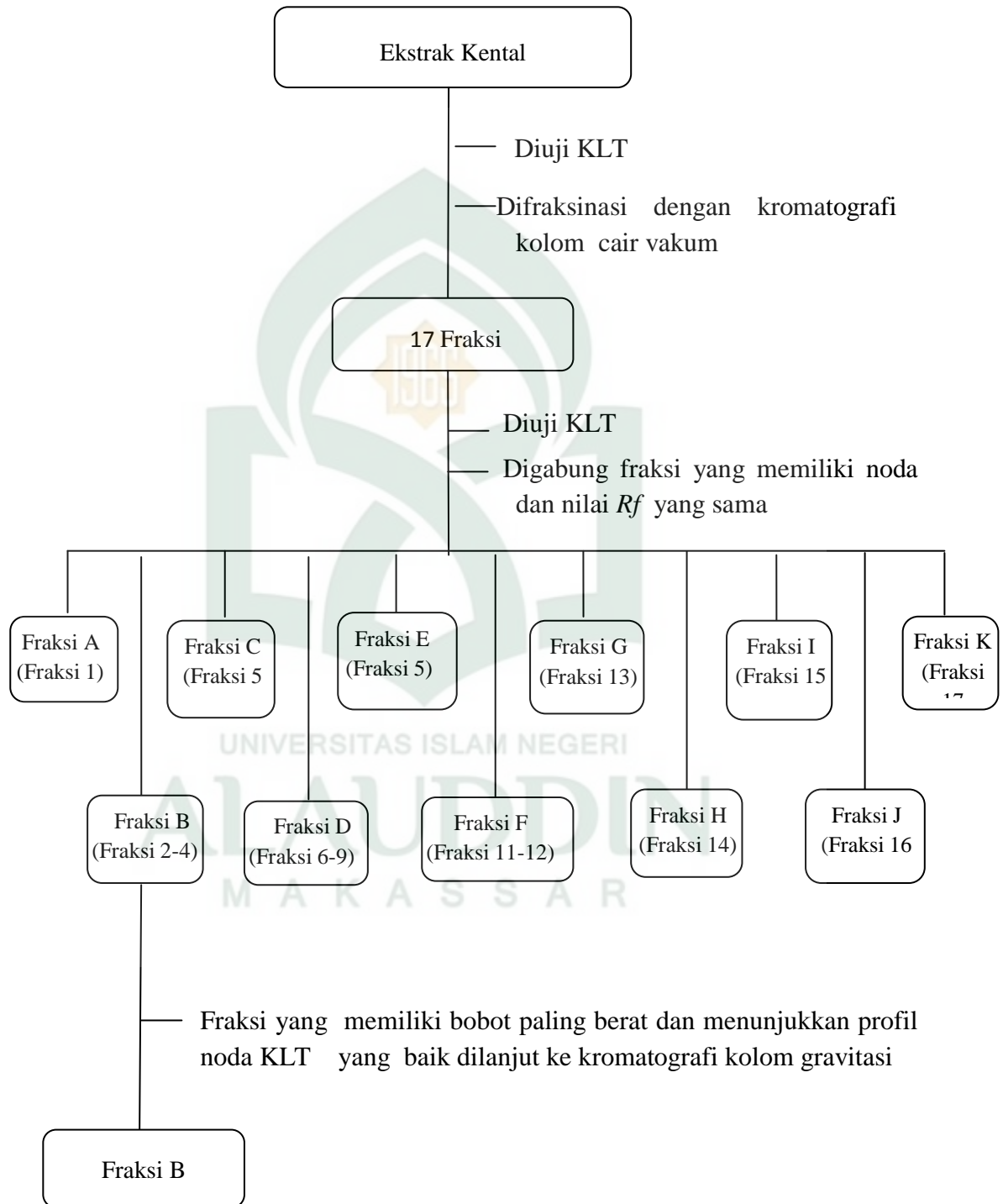


**Lampiran 1: Diagram Alir Isolasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Spons *Stylotella* sp.**



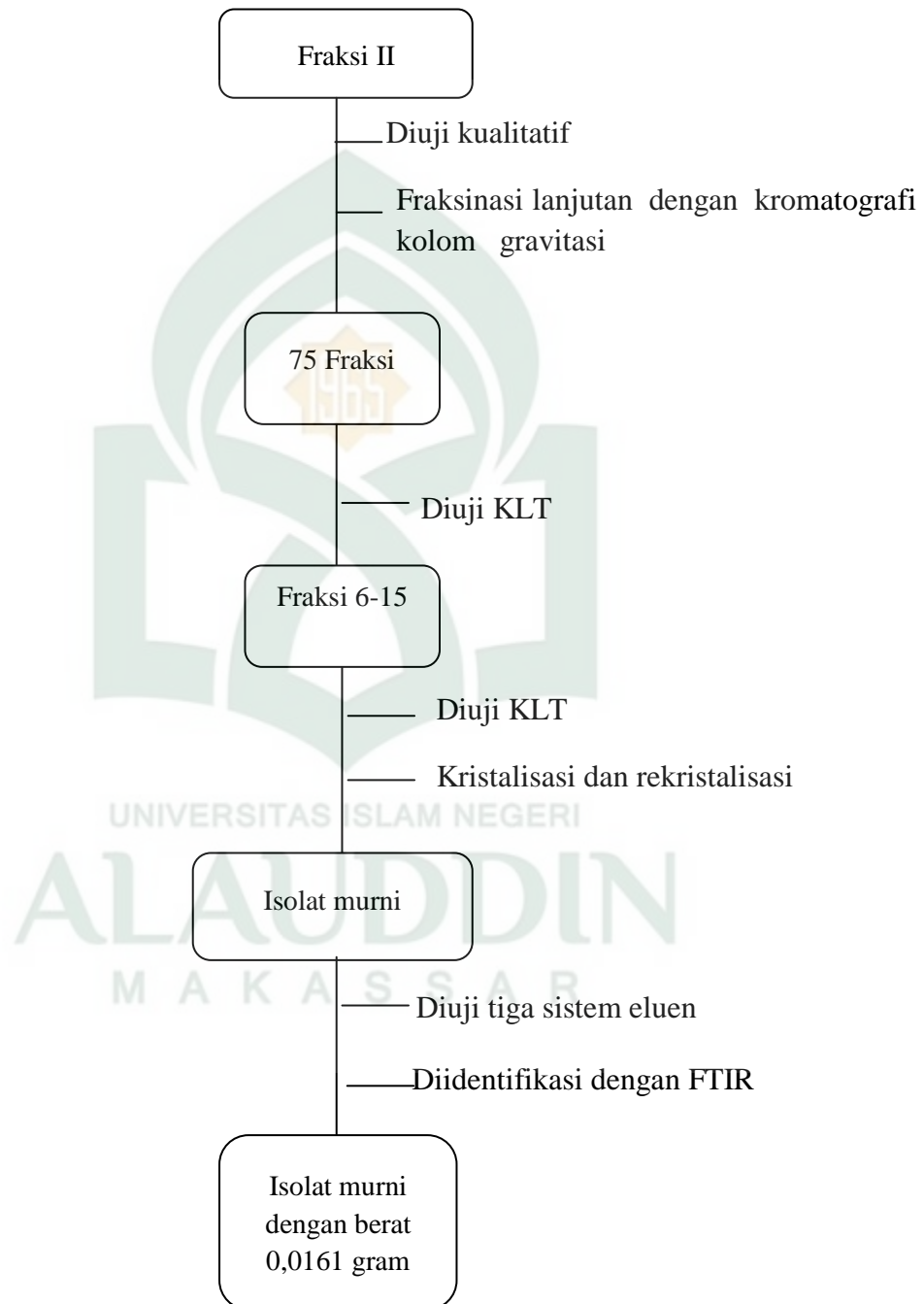
## Lanjutan

### Fraksinasi Awal (Kromatografi Kolom Cair Vacum)



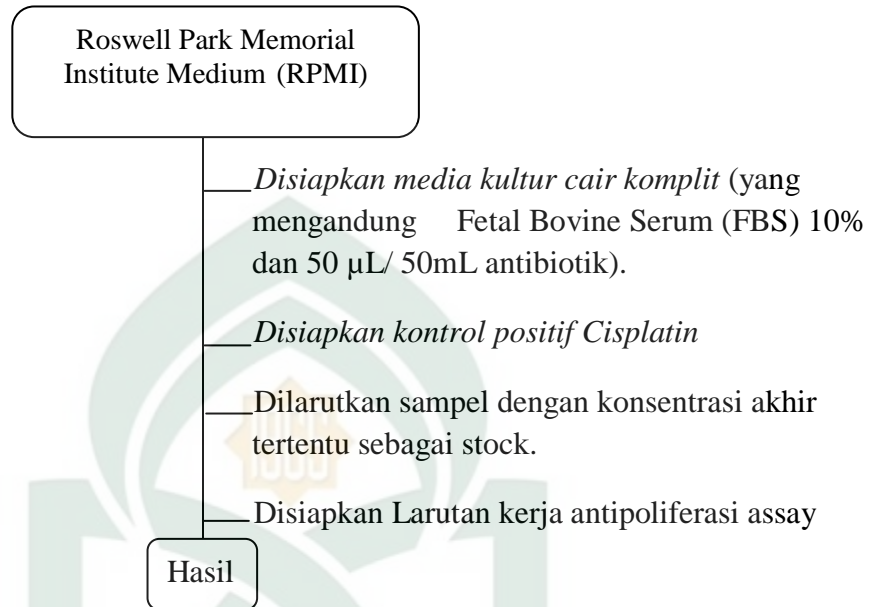
## Lanjutan

### Fraksinasi lanjutan (Kromatografi Kolom Gravitasi)

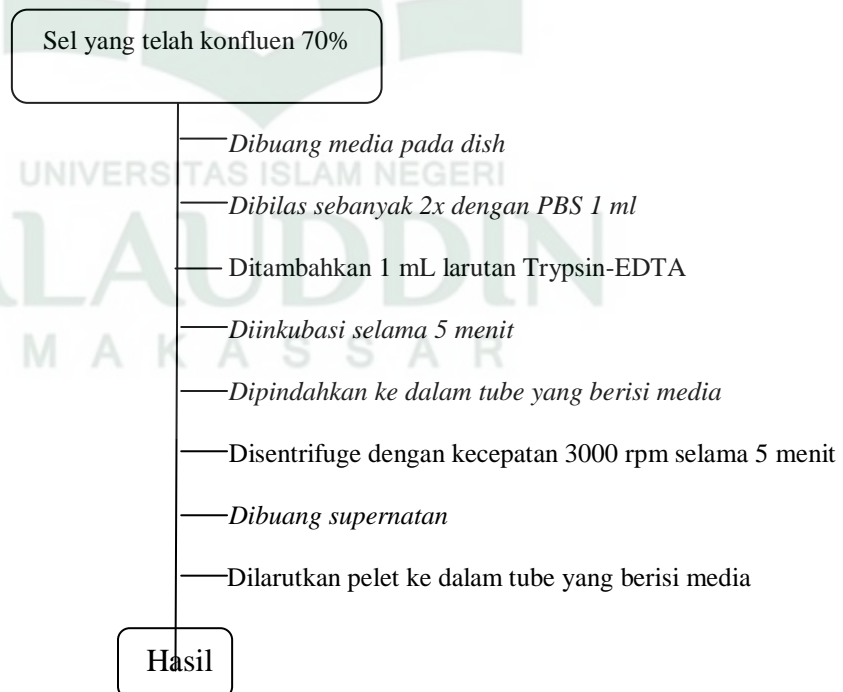


## Lampiran 2 : Pengujian Antikanker

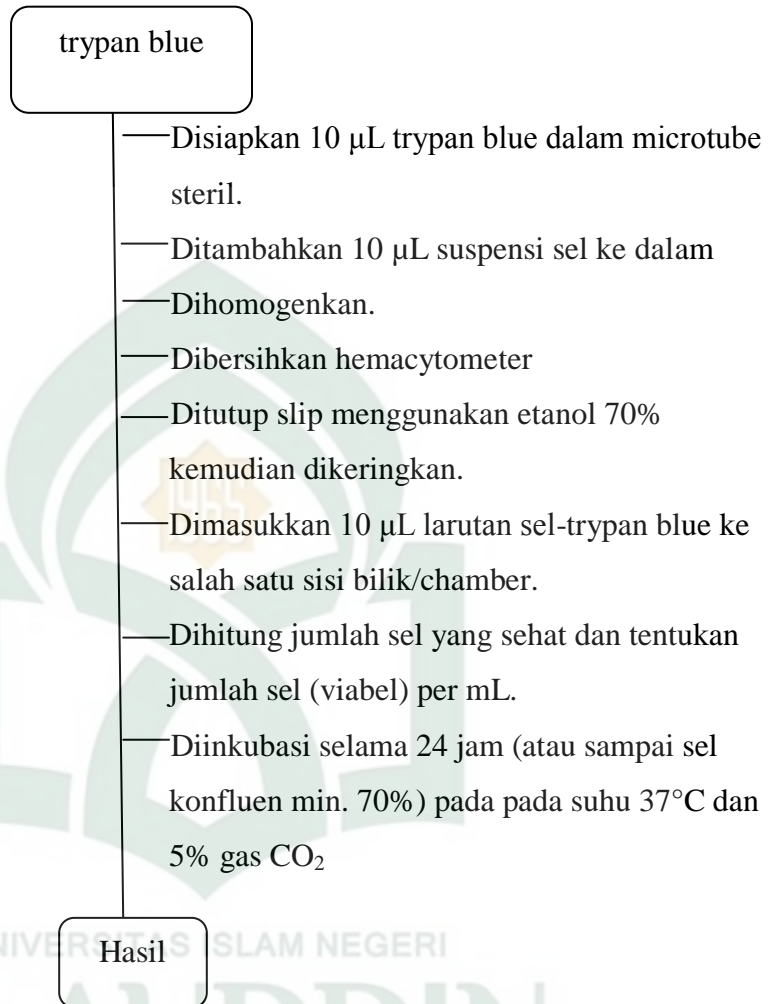
### 1. Preparasi Media



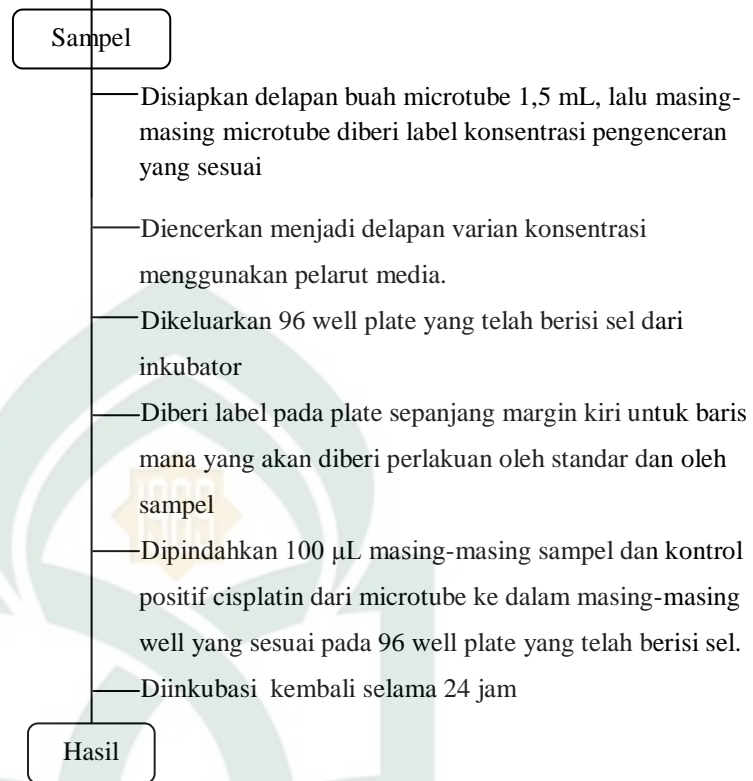
### 2. Preparasi Sel



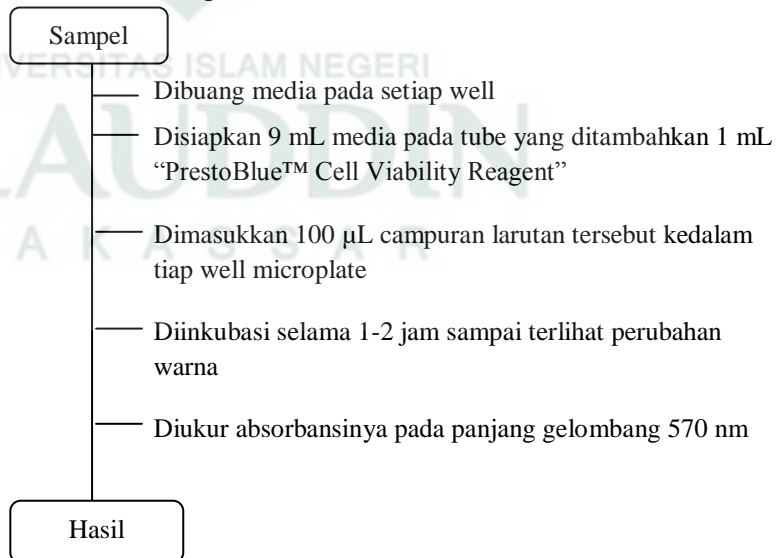
### 3. Seeding Sel ke dalam 96 well plate



#### 4. Perlakuan sel dengan sampel/kontrol positif/kontrol negatif



#### 5. Pemberian reagen Presto Blue dan Pengukuran absorbansi





## Lampiran 4: Dokumentasi Penelitian

### 1. Ekstraksi



Spons Stylotella sp.



Proses Pengeringan



Penghalusan sampel



Penimbangan sampel



Maserasi dengan pelarut etil asetat



Penyaringan maserat etil asetat Spons Stylotella sp.



Evaporasi ekstrak spons



## 2. Fraksinasi



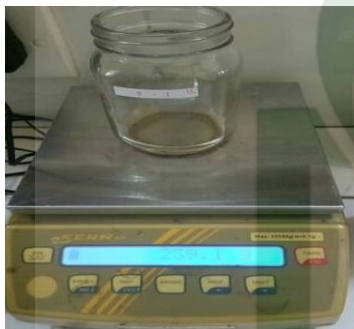
Kromatografi kolom cair vakum



17 fraksi hasil KKCVC



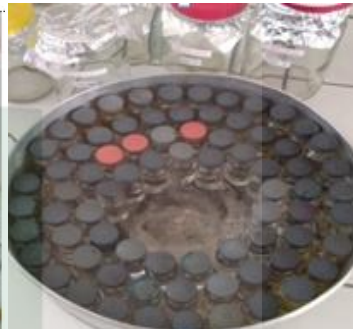
11 fraksi gabungan



Penimbangan fraksi gabungan II



Kromatografi kolom gravitasi



75 fraksi hasil KKG



Penguapan 75 fraksi KKG



Fraksi pilihan



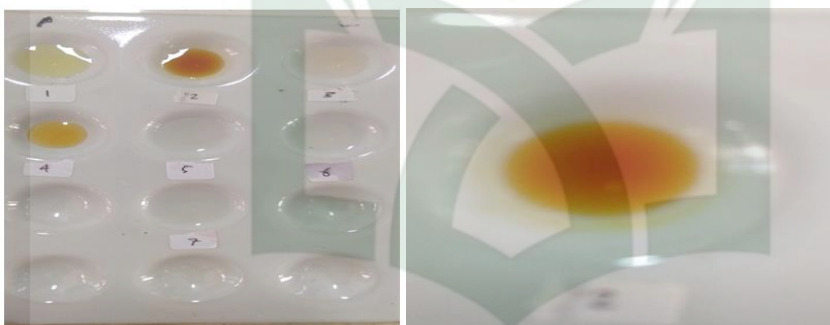
Kristal Murni

### 3. Pemurnian



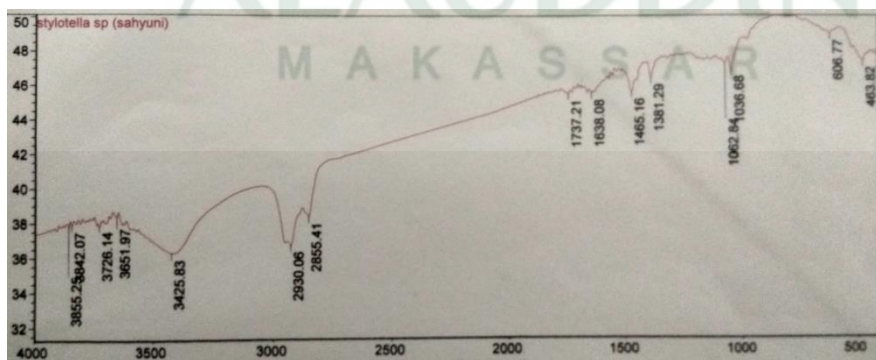
Uji Sistem 3 eluen

### 4. Identifikasi



Skrining Fitokimia      Positif Alkaloid pada uji Wagner

### 5. Karakterisasi dengan FTIR



Spektrum Serapan Spektroskopi FTIR

### Lampiran 5: Peralatan yang digunakan dalam Uji



CO2 Inkubator



Centrifuge



Biosafety Cabinet (BSC)



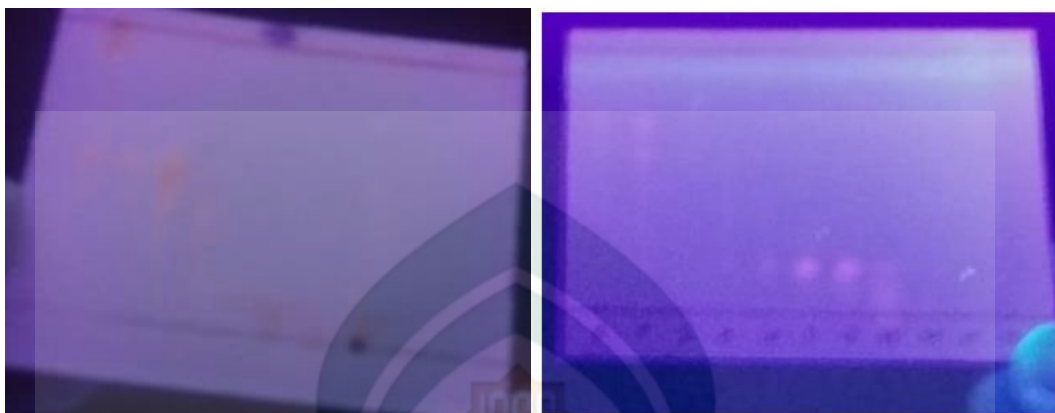
Microscope



Multimode Reader

## Lampiran 6: Hasil KLT

### 1. Hasil KLT setelah KKC



(a)

(b)



(c)

KLT fraksi Etil asetat spons *Stylotella* sp. dengan eluen n-Heksan:Etil asetat penyinaran lampu UV 254-366 nm : (a) fraksi 1-15 perbandingan (9:1) (b) fraksi 6-16 perbandingan (8:2) (c) fraksi 5, 7-11 perbandingan (9:1)

## 2. Hasil KLT setelah KKG



(a)



(b)

KLT fraksi 1-19 hasil KKG dengan eluen n-Heksana:etil asetat (9:1) : (a) Penampakan noda setelah disemprot  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% kemudian dioven (b) Penyinaran lampu UV 254-366 nm.



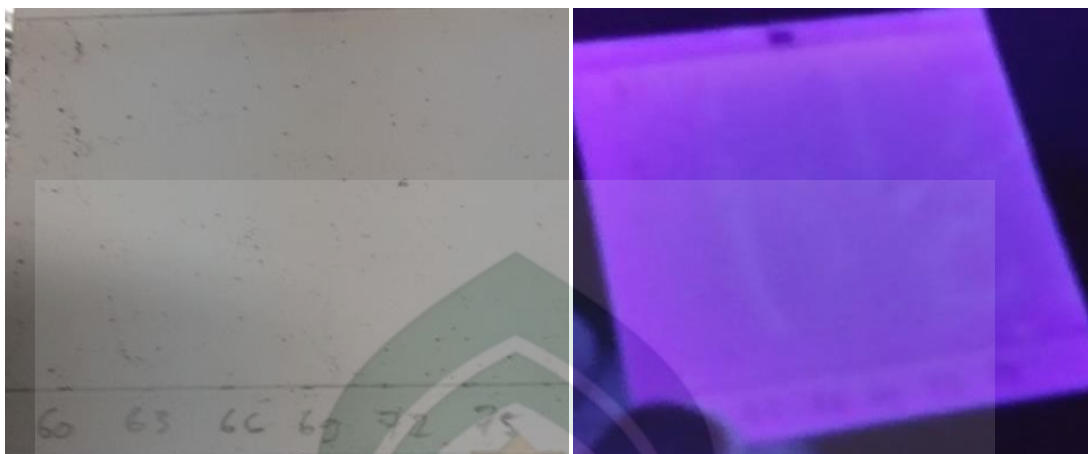


(a)



(b)

KLT fraksi 21-57 hasil KKG dengan eluen n-Heksana:etil asetat (9:1) : (a)  
Penampakan noda setelah disemprot  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% kemudian dioven (b) Penyinaran  
lampu UV 254-366 nm.



(a)

(b)

KLT fraksi 60-75 hasil KKG dengan eluen n-Heksana:etil asetat (9:1) : (a) Penampakan noda setelah disemprot  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% kemudian dioven (b) Penyinaran lampu UV 254-366 nm.



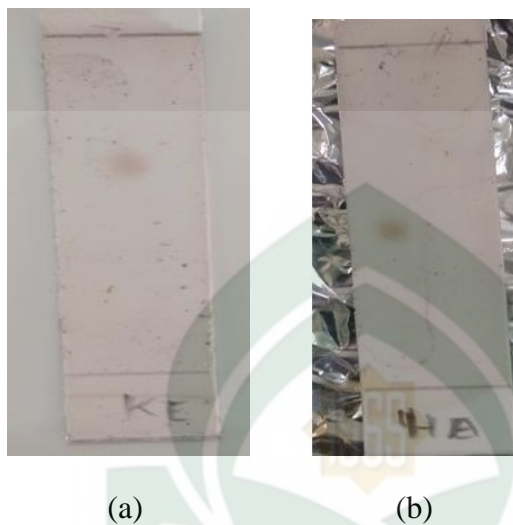
(a)

(b)

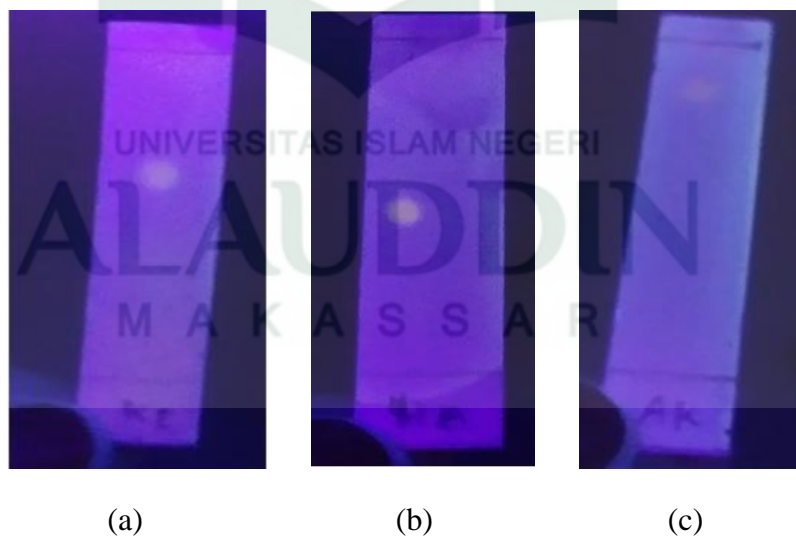
Hasil perbandingan noda fraksi 5, fraksi gabungan 6-15 dan fraksi 16 eluen n-Heksana:etil asetat (9:1) (a) Penampakan noda setelah disemprot  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% kemudian dioven (b) Penyinaran lampu UV 254-366 nm.



### 3. Hasil KLT Isolat murni etil asetat Spons *Stylotella* pada Uji tiga Sistem Eluen



Penampakan noda hasil KLT uji tiga sistem eluen setelah disemprot  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% kemudian dioven: (a) eluen kloroform:etil asetat (9:1) dengan  $R_f$  0,6 (b) eluen n-heksan:aseton (8:2) dengan  $R_f$  0,45 (c) eluen kloroform:aseton (9:1) dengan  $R_f$  0,825

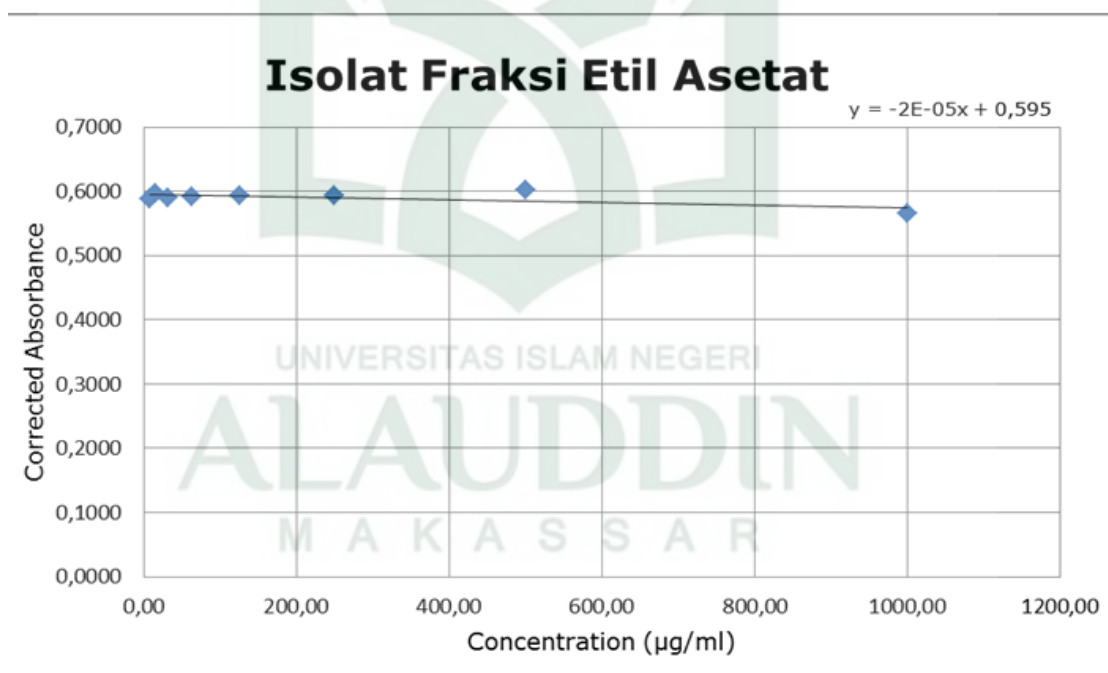


Penampakan noda hasil KLT uji tiga sistem eluen dengan penyinaran lampu UV 254-366 nm : (a) eluen kloroform:etil asetat (9:1) dengan  $R_f$  0,6 (b) eluen n-heksan:aseton (8:2) dengan  $R_f$  0,45 (c) eluen kloroform:aseton (9:1) dengan  $R_f$  0,825

## Lampiran 7: Hasil Uji Antikanker

Tabel Absorbansi Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat

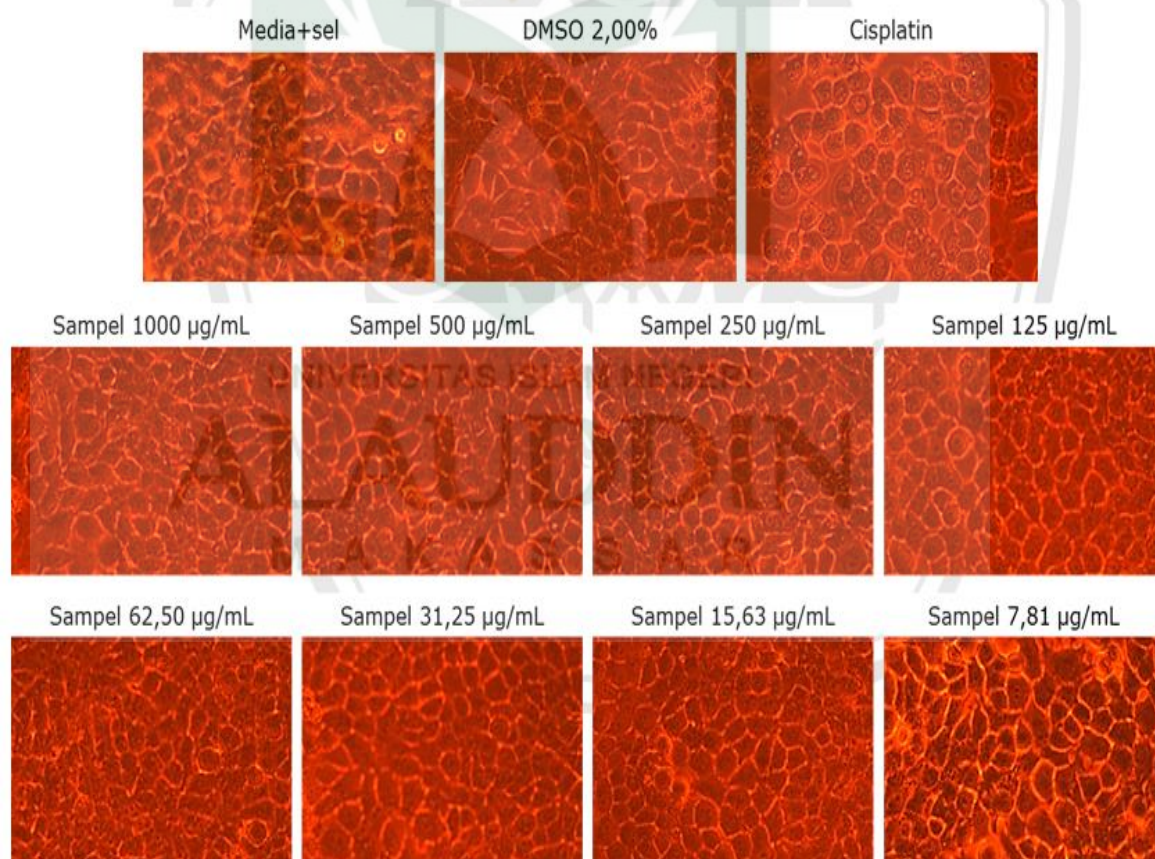
Panjang Gelombang /nm	Media	Media +Sel	Cisplatin	DMSO 2,00%	Konsentrasi Sampel (µg/mL)							
					1000,00	500,00	250,00	125,00	62,50	31,25	15,63	7,81
570	0,4149	0,6947	0,6211	0,6795	0,6808	0,6873	0,6828	0,6886	0,6768	0,6837	0,6920	0,6808
	0,4400	0,6904	0,6021	0,6822	0,6849	0,6974	0,6887	0,6834	0,6862	0,6825	0,6821	0,6808
600	0,5118	0,1866	0,3376	0,1878	0,2238	0,1844	0,1921	0,1936	0,1906	0,1967	0,1918	0,1878
	0,5393	0,1913	0,3385	0,1891	0,2082	0,1933	0,1896	0,1888	0,1869	0,1861	0,1850	0,1878
Corrected Absorbance	-0,0981	0,6062	0,3816	0,5899	0,5551	0,6010	0,5889	0,5931	0,5843	0,5851	0,5984	0,5899
		0,5972	0,3617	0,5911	0,5748	0,6022	0,5972	0,5928	0,5974	0,5945	0,5952	0,5911



Kurva Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat



Dokumentasi Well Plate Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat



Dokumentasi Sel Hasil Uji Sampel Isolat Fraksi Etil Asetat

## RIWAYAT HIDUP PENULIS



Sahyuni Hamzah adalah nama penulis Skripsi ini. Penulis lahir dari orang tua Hamzah dan Intan sebagai anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis dilahirkan di Katlarat, Kecamatan Kei Besar, Kabupaten Maluku Tenggara pada tanggal 21 Oktober 1995. Penulis memulai jenjang pendidikan pada tahun 2002 dimulai dari SDI Sambung Jawa III Makassar dan lulus pada tahun 2008, di tahun yang sama penulis melanjutkan

pendidikan di SMPN 01 Makassar dan lulus pada tahun 2011. Penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah akhir di MAN 2 Model Makassar dan lulus pada tahun 2014 dan pada tahun yang sama penulis melanjutkan ke perguruan tinggi di Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia. Selama kuliah penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) selama satu periode sebagai anggota di bidang keilmuan dan aktif sebagai Asisten Laboratorium. Dengan segala ketekunan, motivasi dan doa penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul “Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Spons *Stylotella* sp. asal Kepulauan Selayar dan Uji Aktivitas Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7” dan resmi menyandang gelar Sarjana Sains (S.Si) di tahun 2018.

ALAUDDIN  
M A K A S S A R